

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA**



**ENDOMETRITIS POR *Chlamydia trachomatis* Y
Ureaplasma urealyticum EN MUJERES CON
INFERTILIDAD Y ABORTO**

TESIS DOCTORAL

María de Lourdes Chávez Briones

Directores: María Guadalupe Gallegos Ávila

Alberto Niderhauser García

David Hardisson Hernáez

Madrid, 2012

Dedicatoria:

*A mis hijos, **Roberto y Aída,**
por su amor incondicional.*

*A mi amado esposo, **Roberto,**
por apoyarme en todo.*

*A mis padres, **Pedro y Refugio,**
por impulsar mi vida con su ejemplo.*

Agradecimientos:

*a la **Dra. María Guadalupe Gallegos Ávila**, por su apoyo desinteresado, por compartir su experiencia y, sobre todo, por su constante asesoría científica durante la realización de la tesis.*

*al **Dr. Alberto Niderhauser García**, por sus enseñanzas como director de este proyecto, por la confianza puesta en mi persona y por su amistad permanentemente manifestada durante la actividad docente.*

*al **Dr. David Hardisson Hernández**, por su amable colaboración en la dirección y asesoría científica de esta tesis, y por el conocimiento compartido.*

*al **Dr. Jesús Áncer Rodríguez**, por la confianza depositada en mí para el desarrollo de esta tesis; sin su ayuda, no podría haberse concluido.*

*al **Dr. Javier Regadera**, por promover los vínculos entre la UANL y la UAM, con mi admiración y respeto como profesor y persona.*

*a los Doctores **Salomón Álvarez Cuevas** y **Benito Ramos González**, Profesores de la Facultad de Medicina de la UANL, por su experta asesoría y por su disposición, confianza y gran calidad humana.*

*a todos mis **Amigos y Compañeros** del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina de la UANL y en especial a la **Dra. Adriana G. Áncer Arellano**, por su amistad y apoyo para la realización de este documento.*

ÍNDICE

ABREVIATURAS	9
1. INTRODUCCIÓN	11
1.1 GENERALIDADES DE LAS INFECCIONES GENITOURINARIAS	12
1.1.1 Infecciones del tracto genital inferior	13
1.1.2 Infecciones del tracto genital superior	15
1.1.3 Signos y síntomas observables en la endometritis	18
1.1.3.1. Sangrado menstrual atípico e hipermenorrea	18
1.1.3.2. Adherencias uterinas (síndrome de Asherman)	19
1.1.3.3. Endometriosis	19
1.1.3.4. Estenosis Cervical	20
1.1.3.5. Dolor Pélvico	20
1.2 INFECCIÓN DEL TRACTO GENITOURINARIO CAUSADA POR <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i>	22
1.2.1 Características biológicas de <i>Chlamydia trachomatis</i>	22
1.2.2 Antecedentes clínicos y epidemiológicos de las infecciones por <i>Chlamydia trachomatis</i>	22
1.2.3 Patogenia de las infecciones por <i>Chlamydia trachomatis</i>	26
1.3 INFECCIÓN DEL TRACTO GENITOURINARIO CAUSADA POR <i>UREAPLASMA UREALYTICUM</i>	32
1.3.1 Características biológicas de <i>Ureaplasma urealyticum</i>	32
1.3.2 Antecedentes clínicos y epidemiológicos de las infecciones por <i>Ureaplasma urealyticum</i>	33
1.3.3 Patogenia de las infecciones por <i>Ureaplasma urealyticum</i>	35
1.4 JUSTIFICACIÓN	37
2 OBJETIVOS	38
3 MATERIAL Y MÉTODOS	40
3.1 MATERIAL	41
3.1.1 Casos incluidos en el estudio	41
3.1.1.1 Criterios de inclusión	41
3.1.2 Número de pacientes, base de datos y confidencialidad	42
3.1.3 Historia clínica	42
3.1.4 Muestras biológicas	42
3.2 MÉTODOS	42
3.2.1 Detección de chlamydia en muestras de exudado cérvico vaginal	42
3.2.2 Detección de <i>Mycoplasma sp.</i> En muestras de exudado cérvico vaginal	44
3.2.3 Técnica histológica	45

3.2.4	Detección de Chlamydia en los cortes histológicos de tejido endometrial	46
3.2.5	Análisis estadístico	47
3.2.5.1	Estadística descriptiva	47
4	RESULTADOS	48
4.1	DATOS CLÍNICOS	49
4.2	RESULTADOS HISTOPATOLÓGICOS	54
5	DISCUSIÓN	97
6	CONCLUSIONES	126
7	RESUMEN	128
8	SUMARY	132
9	REFERENCIAS	135

ABREVIATURAS

ACO:	Anticonceptivos orales
ADN:	Acido Desoxirribonucleico
ATCC:	American Type Cell Collection
CD-20:	Cluster de Diferenciación-20
CD-3:	Cluster de Diferenciación-3
CD-45:	Cluster de Diferenciación-45
CDC:	Center for Disease Control
CE:	Cuerpos Elementales
CO ₂ :	Dióxido de Carbono
CR:	Cuerpos Reticulares
Ct:	<i>Chlamydia trachomatis</i>
DAB:	Diaminobencidina
EDTA:	Etilendiaminotetraacético
EPI:	Enfermedad Pélvica Inflamatoria
ERO:	Especies Reactivas de Oxígeno
GM-CSF:	Factor Estimulante de Colonia de Granulocitos/Macrófagos
GRO-alpha:	Growth regulated oncogene-alpha
H ₂ O ₂ :	Peróxido de Hidrógeno
H-hsp60:	Proteína de choque térmico-60 Humana
HRP:	Peroxidasa de Rábano Picante
HyE:	Hematoxilina y Eosina
IFD:	Inmunofluorescencia Directa
IGU:	Infección genitourinaria
IL-1:	Interleucina 1
IL-10:	Interleucina 10
IL-6:	Interleucina 6
IL-8:	Interleucina 8
INF-γ:	Interferon gamma
ITS:	Infección de Transmisión Sexual
KHz:	Kilohertzio
LRX-1:	Leucine-Rich Repeat Extension-1
M:	Molar
MALT:	Tejido Linfático Asociado a Mucosas
MIT-2:	Proteína Inflamatoria de Macrófagos-2
mM:	Milimolar
MMP-9:	Metaloproteinasa de Matriz-9
MMPs:	Metaloproteinasas de la Matriz
MOPN:	Proteína Mayor de Membrana Externa
NADPH:	Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido-Fosfato
NaHCO ₃ :	Bicarbonato de Sodio
NF-kB:	Factor Nuclear-kappa B
NLRX-1:	NonLeucine-Rich Repeat Extension-1
PBS:	Buffer Salino de Fosfatos
PCR:	Polimerase Chain Reaction
pH:	Potencial de hidrogeno
RPBI:	Residuo Peligroso Biológico Infeccioso
Rpm:	Revoluciones por minuto

S.A de C.V:	Sociedad Anónima de Capital Variable
SA:	Salpingitis aguda
SFE:	Endometritis Focal Subaguda
SPG:	Sucrose-Phosphate-Glutamate
TBST:	Tris Buffer Salino + Tween 20
TGI:	Tracto Genital Inferior
TGS:	Tracto Genital Superior
TMA:	Micromatrices de Tejidos
TRS:	Solución Recuperadora de Antígeno
UFC:	Unidades Formadoras de Colonia
UFI:	Unidades Formadoras de Inclusión
<i>Uu:</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
v/v:	Volumen/Volumen
VIH:	Virus de Inmunodeficiencia Humana
VPH:	Virus del Papiloma Humano

1. INTRODUCCIÓN

1.1. GENERALIDADES DE LAS INFECCIONES GENITOURINARIAS

Las infecciones del tracto genitourinario (IGU) son un grave problema de salud que afecta a millones de personas cada año, están consideradas las segundas en frecuencia sólo por debajo de las infecciones del tracto respiratorio y, además, están catalogadas como las de mayor incidencia dentro de las infecciones nosocomiales (Patton JP *et al.*, 1991).

Las IGU son una condición clínica extremadamente frecuente que ocurre, tanto en el hombre como en la mujer, a todas las edades. La prevalencia y la incidencia de este tipo de infecciones es más alta en la mujer que en el varón, lo cual es resultado de varios factores, entre los que se encuentran las diferencias anatómicas del tracto genitourinario, los efectos hormonales y ciertos patrones de conducta; sin embargo, existen factores que aún no están claramente dilucidados y que podrían influir en la mayor incidencia de este tipo de infecciones en el género femenino (Strom BL *et al.*, 1987).

Las publicaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) refieren la frecuente observación en varones de asociaciones sindrómicas como complicación de las infecciones genitourinarias, que incluyen inflamación de las vesículas seminales (vesiculitis), del epidídimo (epididimitis) y, con mayor frecuencia, inflamación de la próstata (prostatitis), que representa el 25% de los casos en la consulta urológica, asociada a procesos infecciosos del tracto genitourinario (Organización Mundial de la Salud, 2011).

La ruta que generalmente siguen los microorganismos para provocar el proceso infeccioso en el tracto genitourinario superior (TGS) es ascendente. En las mujeres, la infección suele iniciarse como una uretritis, vaginitis o cervicitis silente que, a menudo, no presenta síntomas; por ello, puede pasar desapercibida por el médico o no ser diagnosticada adecuadamente (Gallegos G *et al.*, 2008).

Las IGU son ocasionadas frecuentemente por microorganismos de transmisión sexual y se caracterizan por generar riesgos continuos para la salud y el bienestar de centenares de millones de hombres y mujeres en el mundo. Entre las consecuencias graves de las infecciones de transmisión sexual (ITS) se encuentran infertilidad, tanto en varones como en mujeres, embarazo ectópico, muertes prenatales, enfermedades crónicas y muerte de los recién nacidos (Mylonas I, 2012).

Por otra parte, en las últimas décadas las IGU consideradas de transmisión sexual se han asociado con alteraciones neoplásicas de distintos órganos del tracto genitourinario, como por ejemplo cáncer cérvico-uterino (Anttila T *et al.*, 2001; Ness *et al.*, 2003; Carvalho JP y Carvalho FM, 2008).

Otro tópico importante de la epidemiología y el control de la propagación de las ITS es que, dado que la presencia de algunos microorganismos de transmisión sexual pueden aumentar las probabilidades de transmisión del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), el control de las ITS constituye una estrategia clave para prevenir la propagación de la infección por este virus (Kilmarx PH *et al.*, 2001; Workowski KA, 2012).

En términos de salud comunitaria, la importancia de estas infecciones radica en su alta incidencia y en las secuelas que se pueden originar secundariamente al proceso infeccioso.

Las IGU se pueden dividir para su estudio en aquellas que se presentan en el tracto genital inferior (TGI), que generalmente afectan a la mucosa vaginal, la vulva y el cérvix; y las infecciones del tracto genital superior (TGS), que con alta frecuencia se presentan como una entidad clínica más grave, y afectan al cuello uterino en su porción interna, al útero, las trompas de Falopio y los ovarios (Paavoneen J and EggerKruse W, 1999; Haggerty CL *et al.*, 2010).

1.1.1. Infecciones del Tracto Genital Inferior

Las infecciones del tracto genitourinario (IGU) son una de las causas más comunes de consulta ginecológica, ya que prácticamente todas las mujeres las padecen al menos una vez en la vida. Generalmente este tipo de consultas son ocasionadas por la presencia de infecciones del TGI y se clasifican según su localización en uretritis, en los casos en los que se afecta la uretra; vulvitis, cuando afecta a la vulva; se denomina vaginitis cuando afecta a la vagina; y cervicitis, cuando la región afectada es el cérvix. Sin embargo, la mayoría de las veces se presenta el cuadro clínico infeccioso en más de una de estas regiones anatómicas denominándose, según sea el caso, *vulvo-vaginitis*, *cérvico-vaginitis*, etc (Griebing TL, 2007).

La *uretritis*, *vulvitis*, *vaginitis* y *vulvo-vaginitis*, en ocasiones, presentan una sintomatología común, caracterizada por disuria, polaquiuria, prurito vulvar, dispareunia,

aumento de flujo vaginal o leucorrea, entre otros síntomas; sin embargo, cabe destacar que en algunos casos la sintomatología permite identificar y diagnosticar adecuadamente estos síndromes, por las características del cuadro clínico. En la **vulvitis**, y debido al origen ectodérmico de la vulva, la histología de la lesión presenta las mismas características que la piel: folículos pilosos, glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas; por ello, la vulvitis en muchas ocasiones es tratada como una patología cutánea más que ginecológica. Dentro de los aspectos clínicos observados en estos procesos infecciosos destacan principalmente el prurito vulvar intenso -que se acentúa durante la noche-, el dolor -presente en ciertos procesos infecciosos, como por ejemplo la bartholinitis-, y el enrojecimiento -que puede afectar a toda la vulva, o sólo a los labios mayores o menores- (Foxman B, 2002; Griebing TL, 2007).

La **vaginitis** puede ser ocasionada por gérmenes externos o saprófitos. En los casos en los que la infección vaginal curse sin respuesta inflamatoria aparente el síndrome será denominado *vaginosis*, que se considera clásicamente como una “vaginitis inespecífica” y frecuentemente es ocasionada por gérmenes atípicos. La *vaginitis* se clasifica como infecciosa o no infecciosa, en este último caso es provocada por agentes irritantes o que generan alergias, por ejemplo el uso de geles o tampones. Uno de los aspectos importantes de este tipo de infecciones radica en que son motivo de consulta médica frecuente e incluso, en ciertos casos puede ser considerada la puerta de entrada para la Enfermedad Pélvica Inflamatoria (EPI). Estas infecciones son provocadas por gérmenes no habituales de la aunque también pueden ser ocasionadas por la pérdida del equilibrio de la flora habitual. Algunos aspectos anatomopatológicos pueden ser característicos de este proceso infeccioso, tales como enrojecimiento por la red vascular vaginal y migración leucocitaria (Paavonen J, 2005)

La **cervicitis** se define como un proceso inflamatorio del epitelio endocervical, que es monoestratificado cilíndrico y tapiza las criptas glandulares del canal cervical. Esta infección es muy frecuente y afecta a más de la mitad de las mujeres en algún momento de su vida adulta (Eckert LO y Lentz GM, 2007). *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis* son las dos causas específicas más importantes de cervicitis mucopurulenta (Eckert LO y Lentz GM, 2007; Biggs WS y Williams RM, 2009). Es importante destacar la elevada incidencia de cervicitis crónicas inespecíficas en las que la sintomatología es ambigua y poco clara, y las pruebas diagnósticas de uso común no demuestran ningún

agente etiológico específico. Las ectopias cervicales son muy frecuentes. Debido al daño epitelial, no habrá protección adecuada contra el ambiente hostil de la vagina (secreción ácida y presencia de gérmenes) y frente a los microtraumas repetidos de las relaciones sexuales, por lo que será habitual que exista una inflamación crónica del estroma cervical. La mayoría de las veces es asintomática, pero en casos intensos la mujer se puede quejar de leucorrea o secreción mucopurulenta, dispareunia, coitorragias o, incluso, dolor pélvico (Machado-Junior LC *et al.*, 2008). Dentro de los factores que predisponen a presentar una infección cervical se encuentran: practicar el coito a temprana edad, comportamiento sexual de alto riesgo, tener múltiples parejas sexuales, o presentar antecedentes de ITS (Biggs WS y Williams RM, 2009).

La presencia de flujo vaginal atípico, como la leucorrea, es un motivo de consulta frecuente cuando se presenta un proceso infeccioso del tracto genitourinario. Generalmente, las infecciones del TGI que son ocasionadas por gérmenes atípicos no presentan una sintomatología evidente, por lo que frecuentemente pasan desapercibidas por el clínico y tienden a complicarse y evolucionar hasta una infección crónica, o invadir órganos del tracto genitourinario superior (Eckert LO y Lentz GM, 2007).

1.1.2. Infecciones del Tracto Genital Superior

La inflamación ocasionada por microorganismos en el Tracto Genital Superior (TGS) puede tener su origen en una amplia variedad de gérmenes. En México no existen datos epidemiológicos concretos, pero la incidencia en los Estados Unidos de Norteamérica se estima en un millón de mujeres infectadas anualmente (Patton JP *et al.*, 1991; Organización Mundial de la Salud, 2011).

Las infecciones del tracto genitourinario son causadas por microorganismos de transmisión sexual aunque también pueden ser ocasionadas por microorganismos endógenos residentes de la cavidad vaginal, que son aislados frecuentemente del TGS en mujeres que presentan problemas agudos de inflamación en esta región anatómica, lo que sugiere que estas infecciones son resultado de migración ascendente de microorganismos del TGI (vagina y cérvix) hacia el endometrio o trompas de Falopio (Strom BL *et al.*, 1987)

Las mujeres que presentan inflamación del TGS clínicamente detectable, poseen un mayor riesgo de generar problemas de fertilidad. Se ha demostrado que el daño ocasionado

por la inflamación del TGS genera serios fallos en la reproducción. Además de la pérdida de la fertilidad, las pacientes con lesiones agudas y crónicas en los órganos del TGS presentan un mayor riesgo de embarazo ectópico. La EPI es otra de las secuelas ampliamente referidas como consecuencia de la inflamación de los órganos del TGS (Centro de Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos de Norteamérica, 2012)

Hay estudios que establecen la existencia de una alta incidencia de infertilidad, ocasionada por el denominado factor tubárico, en mujeres que no han cursado con sintomatología de inflamación del TGS. Numerosos estudios científicos retrospectivos han demostrado una fuerte asociación entre la infertilidad ocasionada por factor tubárico y las infecciones previas por bacterias de comportamiento biológico atípico, como *Chlamydia trachomatis*, sin que se haya presentado sintomatología clínica aparente que indique inflamación de TGS (Kodaman PH *et al.*, 2004).

El daño generado a los órganos del TGS puede ser ocasionado por un proceso inflamatorio que no presenta datos clínicos aparentes. Esta condición se denomina infección o inflamación subclínica, no reconocida, o infección del TGS silente. A pesar de que existen antecedentes históricos muy importantes que respaldan la hipótesis de que las infecciones subclínicas del TGS pueden originar infertilidad, se conoce muy poco acerca de la relación existente entre las infecciones del TGI y las infecciones subclínicas del TGS. Estudios preliminares sugieren que mujeres con infecciones del TGI se encuentran en mayor riesgo de presentar inflamación del TGS, aún sin presentar la sintomatología clásica evidente (Likis FE, 2007). Todo lo anterior refuerza la hipótesis del mecanismo ascendente que siguen los microorganismos para ocasionar infecciones en el TGS.

Las infecciones del TGS se clasifican para su estudio en aquéllas que afectan a los ovarios y a las trompas de Falopio; habitualmente se presentan como un síndrome combinado, catalogado como infección o inflamación tubo-ovárica, y, en algunos casos, puede afectar el útero (Likis FE, 2007). A este síndrome generalmente se le denomina Enfermedad Pélvica Inflamatoria (EPI), que se caracteriza por cursar con otros síntomas, como la inflamación de la zona baja de la cavidad abdominal. Generalmente es una complicación seria de algunas infecciones de transmisión sexual, especialmente de las infecciones causadas por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* (Centro de Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos de Norteamérica, 2010).

Una de las manifestaciones más comunes en las infecciones del TGS es la *endometritis*, que típicamente se define como la inflamación del endometrio, y generalmente se debe a agentes infecciosos; en los casos que llega a ser grave puede presentar extensión de la reacción inflamatoria hacia el miometrio o al tejido parametrial. Cuando la infección endometrial se presenta durante el embarazo es denominada *endometritis obstétrica* o *deciduitis*, y es la causa más común de reacciones febriles durante el periodo post-parto. La *endometritis no obstétrica*, generalmente englobada dentro de la EPI, es característica en las mujeres no gestantes. La endometritis se suele observar como resultado del ascenso de la infección desde el TGI. De acuerdo a su fisiopatología, la endometritis puede ser dividida en *endometritis crónica* o *endometritis aguda* (Smith M *et al.*, *et al.*, 2009).

En los estadios de *endometritis aguda* las pacientes pueden cursar con fiebre alta, dolor abdominal, descargas vaginales con olor característico y presencia de sangrado, además de sensibilidad uterina. Frecuentemente las pacientes presentan un historial reciente en el que se sometieron a alguna práctica uterina con empleo de instrumental o parto reciente. Histológicamente, la *endometritis aguda* se caracteriza por presentar un infiltrado inflamatorio mixto muy denso, con predominio de neutrófilos polimorfonucleares y es relativamente frecuente observar destrucción del epitelio glandular y formación de micro-abscesos, que corresponden a conglomerados de neutrófilos localizados focalmente (Cohen CR *et al.*, 2002)

La *endometritis crónica* es una entidad clínica que se caracteriza por presentar una sintomatología ambigua; generalmente evoluciona a partir de un proceso infeccioso agudo preexistente que pasó desapercibido, no fue diagnosticado adecuadamente, o para el que el tratamiento no fue la apropiado. Debido a que la sintomatología y los aspectos clínicos observados en las pacientes son poco específicos es importante conocer las características histopatológicas que ayudan a realizar el diagnóstico correcto. En la endometritis crónica es frecuente observar cambios histológicos, tales como edema en el estroma de la mucosa superficial, incremento en la densidad estromal con presencia de infiltrado leucocitario localizado entre el epitelio glandular y el tejido estromal, y presencia de células plasmáticas entre la substancia fundamental del estroma (Greenwood SM y Moran JJ, 1981).

Un parámetro histológico importante que ayuda a establecer el diagnóstico de esta entidad clínica es la presencia de una falta de sincronización en el proceso de maduración entre las glándulas endometriales y el estroma circundante. Diversos grupos de investigadores sugieren que la presencia de células plasmáticas en el estroma endometrial es el parámetro distintivo de la endometritis crónica (Bayer-Garner IB y Korourian S, 2001; Smith M *et al.*, 2009).

En un estudio, realizado en 1981 por Greenwood S. y Moran JJ., se investigaron clínica e histológicamente a un grupo de 99 mujeres con endometritis crónica y encontraron que los principales hallazgos morfológicos con valor diagnóstico eran el edema e incremento en la densidad estromal acompañado de infiltrado inflamatorio pleomórfico; clínicamente el principal síntoma encontrado fue la presencia de sangrado vaginal en el 94% de las pacientes (Greenwood SM. y Moran JJ., 1981).

En un estudio más reciente, realizado en 2010 por Beruchashvili *et al.*, se llegó a la conclusión de que el principal fenómeno morfológico observable en la endometritis crónica es la presencia de una distrofia severa, caracterizada por alteraciones atróficas del epitelio de revestimiento y glandular; también es común la presencia de infiltrado celular polimórfico y transformación estromal de diferente intensidad (Beruchashvili M *et al.*, 2010). Por otra parte, Kovalenko *et al.* ya habían descrito previamente estas observaciones histopatológicas aunadas a la presencia de cambios fibróticos vasculares y del estroma, así como la presencia de alteraciones en la densidad del endotelio de revestimiento endometrial, disminución del volumen glandular y un incremento relativo del tejido conectivo (Kovalenko VL *et al.*, 2008).

1.1.3. Signos y Síntomas Observables en la Endometritis

1.1.3.1. Sangrado Menstrual Atípico e Hipermenorrea

Uno de los aspectos clínicos que con alta frecuencia se observa asociados a la inflamación endometrial es la presencia de sangrado menstrual irregular o atípico. Las irregularidades en la menstruación con una pérdida excesiva de sangre se correlacionan clínico-patológicamente con una gran variedad de patologías diagnosticables con el estudio histológico de una biopsia endometrial (Khare A *et al.*, 2012). Una investigación realizada por Muzaffar *et al.*, en 2005, refirió el estudio de 260 pacientes con alteraciones en la menstruación (menorragia, metrorragia, polimenorrea y polimenorragia), y cuya biopsia de

endometrio demostró alteraciones tisulares, como hiperplasia endometrial, endometritis crónica no específica, pólipos endometriales, endometrio con disociación de la maduración, endometrio atrófico, metaplasia escamosa y, en algunos casos, neoplasias (Muzaffar M *et al.*, 2005)

1.1.3.2. Adherencias Uterinas (Síndrome de Asherman)

El síndrome de Asherman, adherencias uterinas o sinequias uterinas, se caracteriza por la formación interna de tejido cicatricial que se adhiere al interior de la cavidad uterina. En muchos casos las paredes del útero se pegan entre sí. En otros casos, las adherencias solamente se producen en una pequeña porción del útero. La extensión de las adherencias define si el caso es leve, moderado o severo; además de esto, las adherencias pueden ser delgadas o gruesas y se pueden localizar en un punto o pueden ser confluentes.

La mayoría de las pacientes con Síndrome de Asherman tienen sangrados menstruales escasos o ausentes (oligomenorrea o amenorrea). Algunas de las pacientes que no tienen periodos menstruales sienten el dolor característico cada mes, en el momento en el que deberían tener su menstruación. Este dolor puede indicar que la menstruación se está produciendo, pero la sangre no puede salir del útero porque el cérvix está bloqueado por las adherencias. La presencia de sinequias uterinas también puede estar asociada con abortos recurrentes e infertilidad (Valle RF y Sciarra JJ, 1988; Schenker JG y Margalioth EJ, 1982)

1.1.3.3. Endometriosis

La endometriosis ocurre cuando un tejido endometrial crece fuera del útero, generalmente en las superficies de los órganos localizados en la cavidad pélvica y abdominal. Es frecuente encontrar tejido endometrial localizado en la región ovárica y sobre las trompas de Falopio. En los procesos infecciosos es común observar la presencia de focos de endometriosis. Está comprobada la asociación de la infección ocasionada por *Chlamydia trachomatis* con la endometriosis.

La entrada de sangre menstrual y de fragmentos de tejido endometrial al abdomen desencadena un mecanismo de defensa inmunológica, con afluencia hacia ese sitio de gran cantidad de leucocitos, fundamentalmente macrófagos, e inicio de una respuesta inflamatoria hística con concentración local de prostaglandinas, interleucinas y otras

sustancias que contribuyen a favorecer la fagocitosis y destrucción de todos los tejidos invasores. Cuando la entrada de estos elementos es muy grande o se asocia con la existencia de una pobre respuesta de defensa inmunitaria, quedarán células que no son devoradas y que por pertenecer al endometrio poseen una gran capacidad de multiplicación. De ésta forma se establecen focos de este tejido en el peritoneo, el tejido celular laxo de la pelvis y las trompas de Falopio (Doraiswami S *et al.*, 2011). Al ocurrir la privación hormonal del ciclo ovárico, que motiva el sangrado del endometrio normal, también se produce sangrado en los focos endometriósicos; cuando éstos se encuentran localizados en el espesor de un tejido sólido irán creando un hematoma en su periferia, que crecerá con cada ciclo. Este hematoma se organiza al motivar reacción de fibrosis y solidificación en sus límites, que favorecerán la constitución de la controvertida cápsula de los endometriomas. El sitio donde más se originan endometriomas es a partir de los focos que crecen en el espesor del tejido ovárico (Gazvani R *et al.*, 2011 y 2012).

1.1.3.4. Estenosis Cervical

Desde hace muchos años se plantean una serie de alteraciones de la función menstrual que, por su importancia, hemos querido describir como "síndrome de disfunción cervical con reversión menstrual", para darle independencia e identificar sus síntomas, lo que permite un mejor diagnóstico; se ha considerado que su presencia es el factor etiológico de muchos cuadros de dolor pélvico crónico, así como de afecciones tan importantes como la endometriosis. En la actualidad, y debido quizás al incremento en el número de abortos y dispositivos intrauterinos y, en ocasiones, a factores constitucionales hereditarios o genéticos, es muy frecuente que se establezca este síndrome, al existir una estenosis u oclusión anatómica o funcional del orificio cervical interno, o de todo el canal cervical, que hace que la sangre menstrual fluya hacia la cavidad abdominal en lugar de verterse al exterior, lo que con el paso del tiempo provoca grandes trastornos en la mujer (Walid MS y Heaton RL, 2011).

1.1.3.5. Dolor Pélvico

La enfermedad pélvica inflamatoria aguda consiste en la infección del útero, trompas de Falopio y estructuras pélvicas adyacentes no asociadas con cirugía o embarazo. También es conocida como salpingitis. El término enfermedad pélvica inflamatoria (EPI) es impreciso, ya que el término "inflamación" no es siempre consecuencia de infección.

Cada vez es más común el uso de terminología más específica, como salpingooforitis aguda, piosálpinx con peritonitis pélvica y absceso tubo-ovárico agudo.

En nuestro medio no contamos con cifras fiables sobre la incidencia de EPI, ni a nivel nacional ni regional. En los Estados Unidos de Norteamérica se estima que cada año más de un millón de mujeres son tratadas por salpingitis aguda (SA). La incidencia es máxima en adolescentes y mujeres menores de 25 años. Esta afección y sus complicaciones son causa de más de 2,5 millones de consultas, y más de 150.000 procedimientos quirúrgicos cada año. De 18 a 20 de cada 1000 mujeres, entre 15 y 24 años de edad, presentan un cuadro de salpingitis cada año, siendo la SA la causa del 5 al 20% de hospitalizaciones en los servicios de ginecología en los EE.UU. Del 8 al 20% de las mujeres no tratadas con infección endocervical por *Neisseria gonorrhoeae* o *Chlamydia trachomatis* desarrollarán SA; más del 25% de las pacientes con SA tienen menos de 25 años, y un 75%, son nulíparas. La SA es responsable de aproximadamente el 20% de los casos de infertilidad (Gerbase AC *et al.*, 1998)

Las adolescentes son más susceptibles de desarrollar salpingitis aguda debido a que el epitelio columnar endocervical se extiende más allá del endocérvix (ectopia cervical), lo que determina que una gran área quede revestida por epitelio columnar y escamocolumnar, que es más susceptible a las infecciones por *Chlamydia trachomatis*. La *C. trachomatis* parece no crecer en las células escamosas del exocérvix y la vagina. Además, está claramente identificado que las mujeres con numerosos compañeros sexuales tienen mayor riesgo de sufrir salpingitis aguda (Lardenoije CM y Land JA, 2007).

Durante la menstruación las alteraciones en el moco cervical facilitan la migración ascendente de las bacterias hacia la cavidad endometrial. El uso de anticonceptivos orales (ACO) altera el moco cervical y el tejido endometrial, el que ayuda a bloquear la infección ascendente, al igual que los agentes anticonceptivos de barrera; así mismo, se ha determinado el efecto bactericida de los espermicidas. No está claro el papel de los ACO en el riesgo de la EPI: si bien su acción sobre el moco cervical es protectora, en algunos estudios se ha encontrado que los estrógenos y la progesterona facilitan el crecimiento, supervivencia y ascenso de la infección por *Chlamydia*. Además, se sabe que los ACO pueden facilitar el desarrollo de ectopia cervical (Greenwood SM. y Moran JJ., 1981)

1.2. INFECCIONES DEL TRACTO GENTOURINARIO CAUSADAS POR *Chlamydia trachomatis*

1.2.1. *Características Biológicas de Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis es una bacteria intracelular obligada que posee una estructura similar a las bacterias gran negativas, infecta exclusivamente las células de mamíferos y presenta un ciclo de desarrollo bifásico. Una de las fases de esta bacteria es el *Cuerpo Elemental* (CE) que se caracteriza por presentar un tamaño aproximado de 200 nm, corresponde a la fase infecciosa, y tiene la capacidad de ser metabólicamente inactivo; la infección se inicia con la unión del CE a la membrana de la célula diana; este corpúsculo subsecuentemente entra en la célula rodeado por una vesícula fagocítica membranosa. La vesícula formada por la fagocitosis del CE, denominada *Cuerpo de Inclusión* o *Inclusión No Fusogénica*, por evadir la fusión con el sistema lisosomal de la célula huésped, se diferencia rápidamente al siguiente estadio del ciclo reproductivo de la bacteria, el *Cuerpo Reticular* (CR). En esta fase el germen se caracteriza por ser metabólicamente activo y se replica por fisión binaria dentro del ambiente protector de la inclusión no fusogénica. Siguiendo varios procesos de división celular, los CR se reorganizan y se transforman en los CE infecciosos. Este proceso de transformación implica condensación del ADN genómico mediada por histonas y enlaces cruzados de la Proteína de Membrana Externa (MOMP, por sus siglas en inglés) a través de puentes disulfuro (Bergan T, 1982; Yasser M *et al.*, 2005).

Hacia el final del ciclo de desarrollo de la bacteria, se ha observado que la célula huésped muere, lo que determina la liberación de la bacteria hacia las células circundantes, desempeñando un papel parcial en la inducción de la respuesta inmunológica del huésped (Caro Vergara MR *et al.*, 2005).

1.2.2. *Antecedentes Clínicos y Epidemiológicos de las Infecciones por Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis es la bacteria que ocasiona la infección de transmisión sexual más prevalente con cerca de 90 millones de casos detectados anualmente en el mundo (Organización Mundial de la Salud, 2001). En los Estados Unidos de Norteamérica se detectan más de 1 millón de casos de infección por *Chlamydia trachomatis* anualmente (Centro de Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos, 2007). Las tasas de infección en mujeres publicadas recientemente se han triplicado con respecto a las cifras de

las últimas tres décadas. *Chlamydia trachomatis* es un patógeno que generalmente invade células epiteliales, aunque también se ha visto asociado a una gran variedad de tipos celulares. Difiere de otros patógenos intracelulares en que posee un dimorfismo durante su ciclo vital. A pesar de los avances que se han logrado en el conocimiento de la biología, patogénesis, genómica y epidemiología de la bacteria, hoy en día, las infecciones por esta bacteria causan pérdidas económicas originadas por su alta morbilidad y el gran impacto socioeconómico en todo el mundo. El tropismo estricto que presenta la bacteria hacia las células epiteliales mucosas, el complejo sistema biológico y la estructura antigénica, además de su importante predilección para provocar infecciones persistentes, han ocasionado que esta bacteria se presente como un reto a vencer para el desarrollo de una vacuna que prevenga los efectos adversos de la infección.

La infección por *Chlamydia trachomatis* puede causar daños severos, como infertilidad por obstrucción tubárica (Weström LV, 1996), patología del tracto genital masculino (Cunningham KA y Beagley KW, 2008), o enfermedades cardiovasculares autoinmunes (Bachmaier K *et al.*, 1999). Además, está comprobado que la presencia de esta infección, facilita el contagio por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) (European Centre for Disease Prevention and Control, 2008; Fleming DT y Wasserheit JN, 1999) y por el virus del papiloma humano (VPH), que es el principal agente infeccioso involucrado en el cáncer del cérvix uterino (Taylor-Robinson D y Thomas BJ, 1980; Kihlstrom E y Danielsson D, 1998; Cates W y Wasserheit JN, 1991).

En un alto porcentaje de los casos la infección por *Chlamydia trachomatis* es asintomática. Se ha descrito ausencia de síntomas en el 70% de las mujeres y en el 50% de los hombres, de forma que la infección puede pasar desapercibida y transformarse en una infección con cronicidad de hasta casi 20 años de evolución (Fleming DT y Wasserheit JN, 1999; Gerbase AC *et al.*, 1998; Lardenoije CM y Land JA, 2007), con efectos subclínicos y alteraciones de la fertilidad.

En las mujeres, la bacteria asciende por el tracto genital y puede ocasionar uretritis, cervicitis (Faro S, 1991), bartholinitis, endometritis, sangrado uterino irregular, salpingitis y enfermedad pélvica inflamatoria (Faro S *et al.*, 1993). *C. trachomatis* es responsable de daños en los cilios y obstrucción en las trompas de Falopio (Witkin SS, 1993; Kihlstrom E y Danielsson D, 1998; Lardenoije CM y Land JA, 2007), lo que aumenta el riesgo de embarazos ectópicos y explicaría, en cierta medida, los problemas de infertilidad asociados

con esta infección (Cates W y Wasserheit JN, 1991; Witkin SS, 1993; Peipert JF, 2003; Witkin SS, 2002). Se ha descrito que *Chlamydia trachomatis* se encuentra asociada con dos tercios de los casos de infertilidad tubárica, y con la tercera parte de los embarazos ectópicos (Peipert JF, 2003).

Por otra parte, *Chlamydia trachomatis* se ha encontrado involucrada en casos de enfermedades autoinmunes, contra las denominadas proteínas de estrés humanas, es el caso de H-hsp60, cuya secuencia de aminoácidos tiene un 60% de homología con las proteínas de estrés de *Chlamydia*, lo que puede producir fallos de implantación y abortos. La proteína H-hsp60 es una de las primeras proteínas sintetizadas tras la fecundación y también se expresa en la decidua. La expresión de H-hsp60 en el embarazo temprano puede reactivar los linfocitos sensibilizados a la H-sp60 bacteriana, causando reacciones cruzadas, el rechazo del embrión y, en consecuencia, aborto (Witkin SS, 1993 y 2002).

Otros problemas graves, tales como enfermedad autoinmune del corazón, también se han asociado con *C. trachomatis* (Bachhmainer K *et al.*, 1999). La detección temprana de *C. trachomatis*, y su tratamiento con antibióticos para erradicarla evitaría la formación de autoanticuerpos anti hsp60.

Adicionalmente, *Chlamydia trachomatis* es considerada como un facilitador del ingreso del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y del virus del papiloma humano (VPH) al epitelio cervical, y ha sido implicada como posible cofactor en la etiología del cáncer cervical (European Centre for Disease Prevention and Control, 2008; Fleming DT y Wasserheit JN, 1999; Taylor-Robinson D y Thomas BJ, 1980; Kihlstrom E y Danielsson D, 1998; Cates W y Wasserheit JN, 1991; Deluca G, *et al.*, 2006; Smith J, *et al.*, 2002; De Lucena Oliveira M *et al.*, 2008), debido a que los virus se adquieren más fácilmente en presencia de células inflamatorias en el tracto genital (De Lucena Oliveira M *et al.*, 2009; Fleming DT *et al.*, 1999). La frecuencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* es significativamente mayor en pacientes con lesiones cervicales intraepiteliales (80% vs 14,3%) (De Lucena Oliveira M *et al.*, 2009).

En pacientes obstétricas, *Chlamydia trachomatis* ha sido implicada en corioamnionitis, ruptura prematura de membranas y trabajo de parto prematuro. Así mismo, en el neonato puede ocasionar conjuntivitis y neumonía (Faro S, 1991).

En el hombre, se ha determinado que *Chlamydia trachomatis* puede causar inflamación de la próstata, recto y uretra, además de epididimitis, orquitis (Faro S, 1991; Witkin SS, 1993; Pavoneen J y Egger Kruse W, 1999) y alteraciones de la ultraestructura espermática que pueden ser causa de infertilidad (Gallegos G *et al.*, 2008). No se ha encontrado asociación con otras alteraciones de los parámetros seminales, pero se sabe que los espermatozoides sirven como vehículo de transporte de la bacteria hasta las trompas de Falopio. Así que, aunque los daños no sean severos en el hombre, también deben ser evaluados, por ser un reservorio de *Chlamydia trachomatis* que puede infectar continuamente a las mujeres (Gayados CA *et al.*, 2008).

Chlamydia trachomatis también está asociada con artritis reactiva (Bas S y Vischer TL, 1998) y tracoma, la enfermedad de los ojos a la que debe su nombre, siendo una de las principales causas de ceguera adquirida (Bobo L *et al.*, 1997).

Dentro de los factores de riesgo, las personas más vulnerables parecen ser las mujeres jóvenes: *Chlamydia trachomatis* afecta principalmente a personas con edades comprendidas entre 15 y 24 años (Low N, 2004); probablemente por la característica anatómica de tener la unión escamoso-columnar del cérvix expuesta, lo que favorece la infección (Black CM, 1997; Deluca G *et al.*, 2006).

Los estudios epidemiológicos han señalado otros factores de riesgo: ser una persona soltera sexualmente activa, tener múltiples compañeros sexuales, usar anticonceptivos orales o dispositivos intrauterinos, tener historia previa de ITS, leucorrea y dolor abdomino-pélvico vago (Cates W y Wasserheit JN, 1991; Faro S, 1991; Kihlstrom E y Danielsson D, 1998).

La prevalencia de la infección causada por *Chlamydia trachomatis* es muy importante ya que está considerada la infección de transmisión sexual más comúnmente reportada en Europa y en Estados Unidos (Witkin SS, 2002; Low N, 2004; Centro de Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos, 2007) y según una revisión realizada por Kucinskiene *et al.*, en 2006, lo es también en el mundo entero (Kucinskiene V *et al.*, 2006).

Muchos autores e instituciones, como el CDC (Centers for Disease Control and Prevention, EE.UU), US Preventive Services Task Force, y European Center for Disease Prevention and Control, recomiendan el control rutinario de la infección, tanto en mujeres

como en hombres (CDC, 2007; Kucinskiene V et al., 2006; Bébéar C y De Barbeyrae B, 2009; Filpp E et al., 2008; Wallace L et al., 2008; Joesoef MR et al., 2009).

Actualmente, los expertos del *European Center for Disease Prevention and Control*, se encuentran desarrollando estrategias para controlar la ITS por *Chlamydia* en la Unión Europea. Los programas de control rutinario de *Chlamydia trachomatis* en los países desarrollados han reducido la transmisión y las complicaciones asociadas a la infección por esta bacteria (European Center for Disease Prevention and Control, 2008).

Chlamydia trachomatis también se ha referido como una causa de la alteración del ciclo de las células del huésped y hay evidencias de asociación entre diferentes especies de *Chlamydia* y ciertas neoplasias. Las inflamaciones persistentes causadas por *Chlamydia pneumoniae*, así como su seroprevalencia, se relacionan con un riesgo alto de cáncer de pulmón (Litmann AJ et al., 2005).

Estudios recientes relacionan a *Chlamydia trachomatis* con el cáncer de ovario, debido la homología existente entre la molécula Hsp60 expresada por esta bacteria y la expresada por las células epiteliales; aunque otra hipótesis sugiere para esta causa la infección inicial de la fimbria tubárica (Ness RB et al., 2008). Por otro lado, se ha abordado la posible relación entre *Chlamydia trachomatis* y el linfoma asociado a mucosas (MALT) de pulmón, o con el cáncer prostático (Littman AJ et al., 2004; Anttila T et al., 2005). Adicionalmente, Paba et al., en 2008, realizaron un estudio de 149 pacientes con cáncer o neoplasia intraepitelial cervical, y llegaron a concluir que la infección con *Chlamydia trachomatis* favorece la entrada y persistencia de múltiples tipos de HPV, trayendo como consecuencia la integración viral, la inhibición de la apoptosis, la sobreexpresión de los oncogenes E6/E7 y la transformación celular (Paba P et al., 2008).

1.2.3. Patogenia de las Infecciones por *Chlamydia trachomatis*

El paradigma celular en la patogénesis de la infección por *Chlamydia trachomatis* establece que la respuesta del huésped a la infección se inicia y es sostenida por las células epiteliales, que son la primera diana de la infección por esta bacteria. Las células epiteliales infectadas actúan como primera línea de defensa, iniciando y propagando la respuesta inmune en contra de la infección, llevan a cabo la secreción de quimiocinas que inducen el reclutamiento de leucocitos hacia el lugar de la infección; por otro lado, también liberan citocinas que inician y potencian la respuesta inflamatoria; son estos mediadores de la

respuesta inflamatoria quienes ocasionan el daño directamente en el tejido del huésped (Rasmussen SJ *et al.*, 1997; Stephens RS *et al.*, 1998).

Cuando se presenta una reinfección por *Chlamydia trachomatis*, la liberación de quimiocinas por la célula huésped induce el reclutamiento de células inmunológicas sensibilizadas anti *Chlamydia trachomatis*, lo que rápidamente produce una amplificación de la respuesta. La liberación de proteasas, factores de coagulación y factores de crecimiento tisular por la célula huésped infectada, así como por las células del infiltrado inflamatorio, ocasionan daño tisular y la eventual cicatrización, siendo éste el punto crucial por el que la infección por *Chlamydia trachomatis* causa enfermedad en el oviducto. No existe distinción entre el daño tisular ocasionado por las células de la respuesta inmune innata (neutrófilos y monocitos) y el ocasionado por los linfocitos de la respuesta inmune adaptativa, por lo que se asume que ambas poblaciones de células contribuyen a los mecanismos patogénicos de la infección (Darville T y Hiltke TJ, 2010).

Las infecciones crónicas por *Chlamydia trachomatis* comúnmente ocasionan la liberación de mediadores que promueven el flujo continuo de células inflamatorias, e inducen daño al epitelio del tejido huésped provocando cicatrización y, en último grado, promoviendo la fibrosis tisular (Molano M *et al.*, 2005). Las reinfecciones son muy frecuentes, por ello, la inducción repetida de la respuesta inflamatoria en contra de la bacteria puede, a su vez, provocar daños constantes y sostenidos en el tejido del huésped y provocar secuelas cicatriciales (Burstein GR *et al.*, 1998).

Shah *et al.*, en 2005, investigaron el efecto de la infección por *Chlamydia muridarum* en el TGS de ratones en edad reproductiva; sus resultados demuestran que la inducción de fibrosis en los órganos del TGS es una consecuencia clara de la infección por Clamidias. En las muestras examinadas después de 56 días post-infección, teñidas con Tricrómico de Masson, observan un grado significativo de fibras de colágena subepitelial en el tejido estromal, identificado como tejido fibrótico. Estos autores concluyen que la fibrosis se origina como resultado del ascenso de la infección del TGI hacia el TGS. La formación de tejido fibrótico, hidrosálpinx, la oclusión tubárica y la infertilidad son una consecuencia de esta infección (Shah AA *et al.*, 2005).

Rasmussen *et al.*, en 1997, son los primeros investigadores que enfatizan la importancia de las células epiteliales, mostrándolas como la primera y una de las

principales líneas de defensa en contra de la infección por *Chlamydia trachomatis*. Además, sus estudios demuestran que la infección por *Chlamydia trachomatis* de las células epiteliales cervicales y de colon *in vitro* induce la secreción de una amplia gama de citocinas con funciones proinflamatorias y quimio atrayentes (Rasmussen SJ *et al.*, 1997).

Las células epiteliales endocervicales liberan interleucina 1- α después de la infección. La IL-1 α , liberada por la lisis de las células epiteliales, actúa amplificando la respuesta inflamatoria, estimulando la producción adicional de citocinas. Estos hallazgos forman las bases del “paradigma celular de la patogénesis de la infección por *Chlamydia trachomatis*”, en el cual se teoriza que “el proceso inflamatorio involucrado en la patogénesis de la infección por *Chlamydia trachomatis*, provocado por las células huésped infectadas, es necesario y suficiente para provocar inflamación crónica y promover la proliferación, la remodelación tisular y la cicatrización, las cuales son causas de las secuelas de la infección” (Stephens RS *et al.*, 2003).

En diversos estudios se ha intentado corroborar el efecto de la respuesta inflamatoria en el mecanismo patogénico de la infección por *Chlamydia trachomatis*. Hvid *et al.*, en 2007, comprobaron que añadiendo un antagonista del receptor IL-1 a células en cultivo, se impide completamente la destrucción tisular inducida por la infección, demostrando el rol directo de esta citocina en el mecanismo patogénico de la infección por *Chlamydia trachomatis* (Hvid M *et al.*, 2007). Por otra parte, durante la infección *in vitro* de células epiteliales de las trompas de Falopio se observa la inducción de producción del Factor de Necrosis Tumoral y también se promueve el incremento de la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales del oviducto (Ault KA *et al.*, 1996; Kelly KA *et al.*, 2001)

La producción de quimiocinas y citocinas proinflamatorias también se ha demostrado en modelos murinos de infección del tracto genital por *Chlamydia trachomatis*. Está documentado que ocurre una sobre-expresión de integrinas en el tracto genital murino, que coincide con el inicio de la infección; así mismo, también se ha detectado la Proteína inflamatoria de Macrófagos-2 (MIP-2), una quimiocina producida por neutrófilos considerada como análoga de la IL-8 humana (Kelly KA *et al.*, 1996; Shah AA *et al.*, 2005).

Histológicamente se ha demostrado, en estudios del tracto genital murino, que la intensidad del influjo de neutrófilos hacia el oviducto (piosálpinx) se correlaciona directamente con un eventual desarrollo de hidrosálpinx. La infiltración prolongada de neutrófilos hacia el oviducto se correlaciona con un incremento en la incidencia de hidrosálpinx severo (Ramsey KH *et al.*, 2005; Shah AA *et al.*, 2005).

El análisis histológico del tejido procedente de mujeres infectadas por *Chlamydia trachomatis* y con EPI ha revelado la presencia de infiltrado inflamatorio, caracterizado por la presencia de neutrófilos en el epitelio de la superficie endometrial y en las luces glandulares; también es habitual observar un denso infiltrado linfocitario en el estroma subepitelial, presencia de células plasmáticas estromales y, en los casos más graves, centros germinales con linfocitos transformados (Darville T y Hiltke TJ, 2010). Otro factor potencialmente importante del daño molecular asociado a la infección por *Chlamydia trachomatis* son las metaloproteinasas de la matriz (MMPs), que son expresadas por neutrófilos y monocitos, y se encuentran relacionadas con los mecanismos de proteólisis y resíntesis de la matriz extracelular.

Ramsey *et al.*, en un estudio realizado en 2005, llegaron a la conclusión de que existe relación entre la producción de MMP-9 por neutrófilos, el desarrollo de cicatrización y la fibrosis en el oviducto de ratones, posterior a la infección por *Chlamydia trachomatis* (Ramsey KH *et al.*, 2005). Por otra parte, Ault *et al.* demostraron en células humanas el papel de los neutrófilos y las MMPs en la inducción del daño tisular, estableciendo que células de las trompas de Falopio infectadas *in vitro* con *Chlamydia trachomatis* producen MMP-2 y que las células estromales del oviducto producen MMP-9 (Ault KS *et al.*, 2002).

Las infecciones causadas por *Chlamydia trachomatis* provocan daño severo que en algunos casos es irreversible. Posterior a la infección de las células epiteliales se induce la producción de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO). Estas moléculas dañinas para la célula huésped son aprovechadas por la bacteria induciendo la activación de la Caspasa-1, que contribuye al crecimiento de la bacteria. Dada la importancia de las ERO como inductoras de la activación de la Caspasa-1 durante el crecimiento del cuerpo de inclusión clamidial, se ha puesto atención en este factor. En un estudio realizado recientemente por Abdul-Sater *et al.*, se describe que la producción de ERO durante la infección por *Chlamydia trachomatis* es inducida por la NADPH oxidasa y potenciada por un mecanismo dependiente de LRX1, llegando a la conclusión de que se requiere la presencia

de NLRX1 para el crecimiento óptimo de *Chlamydia trachomatis* (Abdul-Sater AA *et al.*, 2010).

Está totalmente comprobado el efecto dañino que poseen las ERO en la integridad de los componentes celulares y en el deterioro ocasionado en ellos. El anión superóxido y el peróxido de hidrógeno son moléculas de vida corta muy reactiva que oxidan una gran variedad de moléculas celulares, tanto de la membrana, como citoplásmicas y nucleares, incluyendo proteínas, lípidos y ácidos nucleicos (Lamberth JD, 2004). *Chlamydia trachomatis* induce la producción de ERO y la NADPH oxidasa se vuelve un blanco de la bacteria para inducir su producción y revertir la producción de ERO (Boncompain G, *et al.*, 2010)

Por otro lado, está ampliamente documentado que las ERO tienen un papel clave en dos procesos aparentemente tan opuestos como son la activación de la apoptosis y la carcinogénesis. Las ERO desencadenan un programa de señal apoptótica que conduce a la célula a la muerte, estando claramente establecido que el estrés oxidativo es causa de la apoptosis, y no al contrario. Algunas evidencias sugieren incluso que el H_2O_2 podría actuar como un mediador fisiológico de la respuesta intracelular o como un segundo mensajero, ya que en células de mamíferos activa indirectamente el NF- κ B, que es un complejo multiprotéico que regula una gran variedad de genes relacionados con la inmunidad, la inflamación y el cáncer.

Los patógenos bacterianos han sido implicados en la modulación de la apoptosis en la célula huésped, frecuentemente han sido asociados a la inducción de mecanismos pro-apoptóticos del huésped. La inducción de la apoptosis ha sido relacionada con la producción de toxinas bacterianas que van dirigidas en contra de la membrana de la célula huésped, también se relacionan con la inhibición de la síntesis proteica de la célula huésped, o con la secreción de proteínas efectoras directamente en el citoplasma de la célula huésped, vía un sistema de secreción tipo III (Nougayrède JP *et al.*, 2005).

A pesar de ser conocida la influencia de los patógenos bacterianos sobre los mecanismos apoptóticos, aun hay pocos artículos científicos sobre este tema; hay descripciones de estos mecanismos en algunos patógenos intracelulares obligados, como *Rickettsia rickettsii*, que puede inhibir la apoptosis vía la inducción de eventos regulados por el Factor Nuclear- κ B (Clifton DR *et al.*, 1998).

Como es sabido, *Chlamydia trachomatis* es un patógeno procariótico intracelular obligado, pero los efectos de esta bacteria en las rutas de señalización apoptótica son variables, lo que determina que este microorganismo sea único y más complejo que otras bacterias que alteran estas rutas. Bajo circunstancias similares este microorganismo induce apoptosis y/o necrosis, pero bajo algunas otras circunstancias tiene la capacidad de inhibir los mecanismos pro-apoptóticos.

Los factores que determinan de qué manera la bacteria inhibe o induce la muerte de la célula huésped dependen de varias consideraciones patogénicas importantes; una de ellas es si la infección en proceso se encuentra en una etapa aguda o crónica, y si el crecimiento intracelular de la bacteria está programado para desarrollarse en un ciclo infeccioso productivo o en condiciones de crecimiento no productivo. Estas respuestas aparentemente contradictorias, puede que no sean tan inusuales como parecen.

En primer lugar, existen diferentes biotipos de *Chlamydia* y las distinciones basadas en las características de estos biotipos son posibles. En segundo lugar, el género *Chlamydia* causa enfermedades en muchas especies diferentes, y la respuesta pro-apoptótica en una especie huésped puede no ser la misma que la que genera en otra especie, a pesar de que la patogénesis de la enfermedad sea similar. En tercer lugar, en el ciclo de crecimiento intracelular de *Chlamydia* existen variaciones en el desarrollo de la bacteria, dependiendo del tipo de célula huésped, las condiciones ambientales que rodean a este crecimiento, y la naturaleza del tejido que ha sido infectado; es posible que la actividad apoptótica sea controlada por las condiciones de crecimiento intracelular de la bacteria y que, a su vez, esté influenciada por cualquiera de los factores antes mencionados.

Por otra parte, diversos estudios han demostrado que la infección por especies del género *Chlamydia* impide la muerte celular programada dependiente de mitocondrias en las células infectadas. La liberación de Citocromo C de las mitocondrias es requerida para la activación de la caspasa 3, vía la ruta del apoptosoma, y la infección por *Chlamydia trachomatis* inhibe la liberación de Citocromo C, en células tratadas con diferentes inductores de apoptosis (Fischer SF *et al.*, 2004; Greene W *et al.*, 2004)

Whal C., en 2001, demostró que la infección en monocitos por *Chlamydia pneumoniae* induce la transcripción del NF- κ B (Whal C, 2001). Por otra parte, también es

ampliamente conocida su inducción en la expresión de genes que se encuentran involucrados en la señalización de la respuesta inflamatoria, vía receptores de tipo Toll (TLR); además, su activación está también asociada con resistencia a la apoptosis (Karin My Lin A, 2002). Aun se desconoce el grado en que la transcripción de genes dependientes del NF- κ B contribuye a la resistencia de la apoptosis en células infectadas por *Chlamydia trachomatis*.

1.3. INFECCIONES DEL TRACTO GENITOURINARIO CAUSADAS POR *Ureaplasma urealyticum*

1.3.1. Características biológicas de *Ureaplasma urealyticum*

Ureaplasma urealyticum es un pequeño microorganismo que se une a la superficie celular. Está catalogado como una de las bacterias más pequeñas de vida libre, su tamaño oscila entre los 0,2-0,8 μ m y, por ello, tiene la capacidad de penetrar en el interior celular a través de los poros de 0,45 μ m. Posee el genoma bacteriano más pequeño y, como resultado, ha sufrido la pérdida de algunas rutas metabólicas por lo que requiere medios complejos para su crecimiento. Tiene la característica de ser saprófita, es anaeróbica facultativa, puede localizarse dentro o fuera de la célula huésped (intra- y ectocítica). Tiene una alta afinidad por superficies epiteliales (Smith DGE *et al.*, 1994), además de presentar una alta resistencia contra los cambios de temperatura y humedad (Potasman I *et al.*, 1999).

Ureaplasma presenta 2 biovariedades y 14 serotipos: *Ureaplasma urealyticum* biovariedad *parvum* (biovariedad 1 o B), que incluye los serotipos 1, 3, 6 y 14; *Ureaplasma urealyticum* biovariedad T960 (biovariedad 2 o A), que engloba los serotipos 2, 4, 5, así como los serotipos 1-13 (Robertson JA y Chen MH, 1984). Las dos biovariedades son catalogadas como especies diferentes, la biovariedad 1, denominada *Ureaplasma parvum*, y la biovariedad 2, denominada *Ureaplasma urealyticum* (Kong F *et al.*, 2000).

Una característica típica que distingue a *Ureaplasma urealyticum* de otras bacterias, es la falta de la pared celular, por lo que pueden asumir múltiples formas, incluyendo formas redondas, de pera e, incluso, filamentosa. Dado que *Ureaplasma urealyticum* no posee pared celular, presenta una resistencia natural en contra de los antibióticos que atacan la pared celular bacteriana.

Dentro de las características de los mecanismos patogénicos encontramos que este género bacteriano posee factores de adherencia que permiten la adhesión de la partícula bacteriana a las superficies epiteliales celulares (Smith DGE *et al.*, 1994). De este modo, las proteínas de adherencia son uno de los factores de mayor virulencia. Otro factor que influye en los mecanismos patogénicos de la infección por *Ureaplasma urealyticum* es la íntima asociación de la bacteria con la célula huésped, que proporciona un ambiente en el cual se acumulan los productos metabólicos tóxicos, produciendo un intenso daño tisular en el huésped. El peróxido de hidrógeno y el anión superóxido son productos del metabolismo de estas bacterias que han sido implicados en la patogénesis de los tejidos infectados, como lo sugieren algunos estudios donde se ha comprobado la presencia de lípidos oxidados en el tejido huésped. También está demostrado que estas bacterias inhiben la actividad catalasa de la célula huésped, lo que provoca que aumenten las concentraciones del peróxido (Volgmann T *et al.*, 2005).

Todos los serotipos del género *Ureaplasma* contienen una proteína de superficie externa denominada antígeno multi-banda (MB), que es considerado un factor de virulencia importante en este género bacteriano. Sin embargo, aún no se conoce su actividad biológica (Zheng X *et al.*, 1995).

Estas bacterias tienen la capacidad de activar a los macrófagos y estimular la producción de citocinas, además de activar a los linfocitos. Por ello, se ha sugerido que los factores del huésped contribuyen directamente a la patogénesis de la infección, lo que se ha evidenciado experimentalmente en modelos animales (Agbakaba NR *et al.*, 2006).

1.3.2. Antecedentes Clínicos y Epidemiológicos de las Infecciones por *Ureaplasma urealyticum*

Ureaplasma urealyticum está considerado miembro de la flora microbiana normal del tracto genitourinario y se puede encontrar en el 40-80% de las mujeres en edad reproductiva. En estos casos, los hijos nacidos de estas mujeres lo adquieren al nacer con una frecuencia del 40 al 70%, acentuándose esta incidencia en los niños pre-término. Sin embargo, al igual que otros miembros de la familia *Mycoplasmataceae*, como *Mycoplasma hominis*, la colonización tiende a desaparecer con la edad (Tae-Jung S, 2010).

En la edad adulta *Ureaplasma urealyticum* se asocia con patologías como la uretritis no gonocócica y la epididimitis, también se han encontrado evidencias de su asociación

con urolitiasis así como con problemas reproductivos e infertilidad. Esta bacteria se ha aislado por cultivo de muestras procedentes de corioamnionitis, patología del embarazo que está asociada con prematuridad, bajo peso al nacimiento, neumonía y displasia broncopulmonar o enfermedad pulmonar crónica del recién nacido. En el recién nacido la infección puede ser adquirida porque la infección intrauterina (endometritis) condujo a deciduitis y corioamnionitis provocando la infección fetal *in utero*, pero también la infección puede ser adquirida en el momento del nacimiento, a su paso por el canal de parto (Yoon BH *et al.*, 1998).

Otras patologías con las que se ha asociado a *Ureaplasma urealyticum* son: sepsis, neumonía, meningitis, artritis séptica y en la formación de cálculos renales (Zdrodowska-Stefanow B *et al.*, 2006). Este germen se ha encontrado en estudios de autopsias, vísceras y cerebro de niños recién nacidos muertos, de los que el 50% presentaban malformaciones congénitas. Estos informes sugieren que *Ureaplasma urealyticum* ejerce efectos teratogénicos durante la etapa fetal del desarrollo; por otra parte, otros estudios mencionan que la colonización de *Ureaplasma urealyticum* sobre la superficie coriónica de la placenta pudiera estar asociada a morbi-mortalidad perinatal, con nacimientos prematuros y con el desarrollo de enfermedad pulmonar crónica en niños con bajo peso al nacer (Volgmann T *et al.*, 2005)

Dentro de las condiciones que se mencionan como factores de riesgo para adquirir la infección urogenital por *Ureaplasma urealyticum* se encuentran el bajo estatus socioeconómico y el tener múltiples parejas sexuales. Por otra parte, también está documentado que las personas fumadoras presentan una mayor tasa de colonización por esta bacteria (Povlsen K *et al.*, 2002). Luton *et al.*, refirieron la presencia de *Ureaplasma urealyticum* en el 82% de los casos de mujeres africanas embarazadas (Luton D *et al.*, 1994). Las fluctuaciones en las incidencias reflejan la influencia que el estadio hormonal tiene sobre la infección, hecho comprobado en modelos experimentales en animales (Furr PM y Taylor-Robinson D, 1998).

En un estudio realizado recientemente por Mirnejad *et al.*, se estudió una población de 210 pacientes y se analizaron por PCR la presencia de *Ureaplasma urealyticum* y de *Mycoplasma genitalium*; los resultados mostraron positividad en casi el 50% de los casos estudiados (Mirnejad R *et al.*, 2011). Esto comprueba que, aún en nuestros días y a pesar

de los avances en las técnicas diagnósticas y terapéuticas, se mantiene una alta prevalencia de esta infección en población no seleccionada.

1.3.3. Patogenia de las infecciones por *Ureaplasma urealyticum*

Existen pocos estudios que describan el daño histológico ocasionado por la infección por *Ureaplasma urealyticum*; sin embargo, estudios experimentales realizados hace algunos años han demostrado que esta bacteria, por sus características biológicas, causa alteraciones en el tejido infectado mediante la inducción de la respuesta inmunológica del huésped o por los mecanismos patogénicos propios del microorganismo.

Pickering *et al.*, realizaron un estudio experimental en el que indujeron pielonefritis por *Ureaplasma urealyticum* y encontraron como hallazgos relevantes que la infección por este germen induce atrofia tubular, fibrosis intersticial y un gran infiltrado inflamatorio caracterizado por la presencia de células mononucleares. Los daños más severos se encontraban acompañados por formaciones hialinas entre los túbulos, principalmente en los casos de infección crónica (Pickering WJ *et al.*, 1990).

Está comprobado que en recién nacidos *Ureaplasma urealyticum* causa alteraciones pulmonares crónicas y es causa importante de morbi-mortalidad de recién nacidos. También se ha documentado el efecto que esta bacteria tiene en la inducción de displasia bronco-pulmonar.

Un mecanismo que emplea *Ureaplasma urealyticum* para inducir daño tisular del huésped es la formación de adherencias celulares; en publicaciones previas se ha comprobado que esta bacteria se une fuertemente a las superficies celulares, por ejemplo a eritrocitos, espermatozoides y células del epitelio uretral (Díaz-García FJ *et al.*, 2006). Con estos antecedentes, Torres-Morquecho *et al.*, realizaron un estudio experimental para investigar si esta bacteria también genera adherencias sobre las células epiteliales pulmonares, y demostraron que, en efecto, sí es un mecanismo patogénico que emplea esta bacteria para generar daño pulmonar, aunque es rápidamente contrarrestado con el empleo de la terapéutica adecuada (Torres-Morquecho A *et al.*, 2010).

La inducción de apoptosis por *Ureaplasma urealyticum* aún no se encuentra totalmente comprobada; aunque en estudios *in vitro* se ha tratado de demostrar este mecanismo en la etiopatogenia de la infección.

Li *et al.* demostraron mediante la utilización de macrófagos humanos y células epiteliales de pulmón que cuando estas bacterias son estimuladas con antígenos de *Ureaplasma urealyticum*, se genera apoptosis; ésta es una evidencia morfológica del posible mecanismo molecular del daño que fue corroborado por el análisis de la fragmentación del DNA celular (Li Y *et al.*, 2002).

Un síndrome asociado a la infección del tracto genital por *Ureaplasma urealyticum* es la endometritis focal subaguda (SFE, por sus siglas en inglés), que se considera que es producida por la colonización inicial del canal cervical. Este síndrome es considerado un indicador significativo de adherencias pélvicas o endometriosis.

En un estudio retrospectivo realizado por Fahmy NW *et al.* en 1987, en el que se estudiaron 64 pacientes con SFE, se compararon los resultados del análisis de las tasas de aislamiento cervical de la bacteria, patrones de maduración del endometrio y los hallazgos laparoscópicos; se estudiaron 70 biopsias de endometrio de mujeres control sin evidencias histológicas de SFE. Los resultados sugieren que el SFE puede ser ocasionado por autoinmunidad endometrial ocasionada por la infección por esta bacteria (Fahmy NW *et al.*, 1987)

Está comprobado que en recién nacidos *Ureaplasma urealyticum* causa alteraciones pulmonares crónicas y es causa importante de la morbi-mortalidad del recién nacido. También se ha documentado el efecto que esta bacteria tiene en la inducción de displasia bronco-pulmonar. La infección pulmonar por este microorganismo induce la producción de citocinas pro inflamatorias como el Factor de Necrosis Tumoral alfa (FNT- α), la interleucina 10 (IL-10) y la interleucina 8 (IL-8); también induce la expresión de citocinas reguladoras como la interleucina 6 (IL-6) y la interleucina 10 (IL-10) (Waites KB *et al.*, 2005).

Se ha demostrado mediante modelos animales que la infección por *Ureaplasma* incrementa la celularidad en el tejido infectado e induce la producción de Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos-Macrófagos (GM-CSF). Estos estudios sugieren que esta bacteria induce una inflamación limitada y daño tisular mínimo en las fases tempranas de la infección, pero por otra parte, provoca respuesta inflamatoria crónica en las fases tardías de la infección (Viscardi RM *et al.*, 2002; Novy MJ *et al.*, 2009).

1.4. JUSTIFICACIÓN

Las infecciones en el tracto genitourinario causadas por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* son un grave problema de salud mundial. Existen evidencias de que en el tracto genitourinario humano la co-infección por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* es mucho más frecuente que la infección por estos gérmenes por separado.

No existen estudios en los cuales se evidencie el posible efecto sinérgico en los mecanismos patogénicos de la co-infección por estos gérmenes.

Consideramos de interés realizar un estudio histopatológico descriptivo y cuantitativo para caracterizar el tipo de daño inmunológico y tisular generado por la co-infección endometrial por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* en el humano y realizar la correlacionar el daño histopatológico generado por la co-infección con los antecedentes clínicos de las pacientes.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar los parámetros clínicos e histopatológicos de la endometritis por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* en mujeres con infertilidad y aborto.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Primero. Evaluar los parámetros clínicos presentes en mujeres con endometritis por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* e infertilidad y aborto.

Segundo. Determinar los parámetros histopatológicos de la endometritis por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* en mujeres con infertilidad y aborto.

Tercero. Localizar las partículas bacterianas compatibles morfológicamente con *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL

El trabajo se realizó en la consulta especializada de infertilidad y Laboratorio de Andrología SERTOLI Asociados SC en Monterrey, Nuevo León, México y en el Laboratorio de Andrología del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León en la Ciudad de Monterrey, México.

El estudio no fue sometido a aprobación por un consejo de ética institucional debido a que los pacientes proceden de una clínica de fertilidad privada en la que no opera un consejo como tal, pero todas las pacientes firmaron de manera voluntaria un documento en el que se les daba información del trabajo especificando el tipo de muestra que sería colectada y los análisis que se realizarían con ella.

3.1.1. Casos Incluidos en el Estudio

El grupo de estudio está conformado por mujeres que junto con su cónyuge acudieron a la consulta de infertilidad y Laboratorio especializado de Andrología SERTOLI SC (Monterrey, Nuevo León, México), por infertilidad o aborto repetitivo y con infección genital interna por *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasmas* genitales. Se realizó una selección de las pacientes en base a los siguientes criterios:

3.1.1.1 Criterios de Inclusión

- Mujeres con fallo reproductivo o incapacidad para procrear.
- Mayores de edad.
- Diagnóstico microbiológico de *C. trachomatis*, *Mycoplasma sp.* o ambos, presentes en muestras de exudado endocervical.
- Signos y síntomas de endometritis.
- Disponibilidad de al menos una biopsia endometrial posterior al diagnóstico de endometritis.
- Pacientes que aceptaran participar en el estudio y que firmaran el consentimiento informado.

3.1.2. Número de Pacientes, Base de Datos y Confidencialidad

Para la realización de este trabajo se planteó un estudio retrospectivo mediante selección de los casos partiendo de la información recogida en la historia clínica de cada una de las pacientes estudiadas. Para ello, se creó una base de datos que permitiera realizar el análisis de la información con el objetivo de estudiar posibles asociaciones entre las características clínicas y los hallazgos de laboratorio. La identificación de cada una de las pacientes se realizó a través de la asignación de una clave de confidencialidad anónima. Los datos de nombres y claves están restringidos y solo tuvieron acceso a esta información el médico especialista en Andrología y los responsables del proyecto.

Se incluyeron 33 pacientes que cumplían todos los criterios de inclusión, a partir de los casos atendidos en la consulta de Andrología, en un periodo comprendido del 2004 al 2011.

3.1.3. Historia Clínica

Se realizó el análisis del expediente clínico de cada una de las pacientes incluidas en el estudio a partir del archivo de la institución de procedencia (Sertoli-Lab). Se recogieron los siguientes datos para su análisis: parámetros demográficos, antecedentes de fertilidad e infertilidad, tratamiento contra problemas de infertilidad, síntomas ginecológicos de infecciones genitourinarias, antecedentes de lesiones cervicales, signos y síntomas de endometritis, antecedentes familiares de neoplasias y complicaciones obstétricas.

3.1.4. Muestras Biológicas

De cada una de las mujeres incluidas en el estudio se recuperaron los bloques de parafina que contenían los tejidos uterinos de pacientes con endometritis, a partir del archivo de biopsias del Departamento de Patología de la facultad de Medicina de la U.A.N.L.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Detección de *Chlamydia* en Muestras de Exudado Cérvico-Vaginal

Se realizó la prueba de IFD anti-*Chlamydia trachomatis* en 33 especímenes de exfoliado cérvico-vaginal de las pacientes incluidas en el estudio posterior a la entrevista

clínica. Se utilizó el kit comercial de detección mediante IFD usando anticuerpos monoclonales anti-*Chlamydia trachomatis* (Chlamydia direct IF identification kit; BioMérieux, SA. Lyon, Francia). Los anticuerpos empleados en el kit diagnóstico tienen afinidad por la Proteína Mayor de Membrana (MOMP) 15 serotipos de la especie *Chlamydia trachomatis* y permite detectar la bacteria en sus diferentes estadios de evolución: Cuerpos Elementales y Cuerpos Reticulares.

La técnica empleada para tal determinación se describe a continuación:

1. El hisopo con el que se obtuvo la muestra de exfoliado cérvico-vaginal se lavó energicamente con 500µL de PBS estéril con el propósito de liberar todo el contenido celular obtenido durante la toma de muestra.
2. Posteriormente las muestras fueron concentradas mediante centrifugación a 12000 rpm durante 20 minutos.
3. El concentrado celular obtenido se resuspendió en 40 µL de PBS estéril, se dispuso sobre un portaobjetos en un área aproximada de 1 cm² y se fijó por desecación; para aumentar el grado de fijación se dispensaron 500 µL de metanol y se dejaron reposar a temperatura ambiente hasta que se evaporó el excedente.
4. Los portaobjetos se incubaron con el anticuerpo monoclonal fluorescente anti-*Chlamydia trachomatis* durante 30 minutos a temperatura controlada de 25°C y bajo condiciones de humedad, Después se retiró el exceso de reactivo con una solución Buffer PBS (Na₂HPO₄ 2H₂O; KH₂PO₄; NaN₃) a pH 7,2 durante 5 minutos a temperatura ambiente, inmediatamente se lavaron las laminillas con agua destilada durante 5 minutos y se desecaron en incubadora a 37°C durante 15 minutos. Finalmente se colocó el cubreobjetos sellándose con una gota de glicerol.
5. Las muestras se observaron con un microscopio de fluorescencia (Axiostar, Carl Zeiss, Göttingen, Alemania), empleando objetivo de 63X y ocular de 10X con cifra de campo 18.
6. Para cada observación se verificó la calidad del reactivo procesando un portaobjetos de control negativo y uno de control positivo (Chlamydia Direct IF(C+/C-), BioMerieux, Francia).

Nota: De acuerdo a los fabricantes del Kit diagnóstico, se consideró positivo el resultado de esta prueba cuando se observaron más de 10 cuerpos elementales fluorescentes en el total de la muestra biológica analizada.

3.2.2. Detección de *Mycoplasma sp.* en Muestras de Exudado Cérvico-Vaginal

Para la identificación de ureaplasmas y micoplasmas utilizamos un sistema de identificación bioquímica API, Mycoplasma IST 2 (BioMerieux, Francia), que contiene los sustratos específicos para el cultivo e identificación de varias especies de: *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma fermentans* y *Mycoplasma hominis*. Además, mediante este sistema se pudo realizar una cuantificación de la concentración de gérmenes, así como la comprobación de su susceptibilidad a los antibióticos.

El hisopo con el que se obtuvo la muestra de exfoliado cérvico-vaginal se colocó en 3 mL de medio de transporte que contenía peptona en solución de cloruro de sodio 0,65%, para inhibir el crecimiento de gérmenes Gram positivos y Gram negativos. La muestra diluida en el medio de transporte se mezcló con el medio de cultivo liofilizado que contiene los extractos lábiles del medio de cultivo: extracto de levadura, suero de caballo, urea, arginina, rojo fenol como indicador de pH, antibióticos y un antifúngico (para inhibir el crecimiento de flora bacteriana y micótica contaminante de la muestra). Una vez resuspendida la muestra de los pacientes con el liofilizado, se colocó una alícuota de 55 µL en cada uno de los 16 pocillos de la placa de multipocillos estériles; de este modo se puede realizar el aislamiento, la identificación y la prueba de susceptibilidad de los gérmenes frente a los antibióticos.

La distribución de las muestras en los distintos pocillos fue la siguiente:

Pocillo 1: Control de muestra	Pocillos 8 y 9: Josamicina (2 y 8 mg/L)
Pocillo 2: Identificación de <i>U. urealyticum</i>	Pocillos 10 y 11: Ofloxacina (1 y 4 mg/L)
Pocillo 3: Identificación de <i>M. hominis</i>	Pocillos 12 y 13: Eritromicina (1 y 4 mg/L)
Pocillo 4: Título de <i>U. urealyticum</i> $>0=10^4$ UCC	Pocillos 14 y 15: Tetraciclina (4 y 8 mg/L)
Pocillo 5: Título de <i>M. hominis</i> $>0=10^4$ UCC	Pocillo 16: Pristinamicina (2 y 8 mg/L)
Pocillos 6 y 7: Doxiciclina (4 y 8 mg/L)	

Una vez depositada la muestra en los pocillos, se cubrió cada uno con 2 gotas de aceite mineral estéril para crear un ambiente de anaerobiosis y evitar la evaporación del

medio. La incubación se llevó a cabo a 37° C durante 72 horas para *U. urealyticum* y 5 días para *M. hominis* y *M. fermentans*. Al término del período de incubación, la prueba se consideró positiva para *U. urealyticum* cuando en el pocillo correspondiente el indicador, que originalmente es incoloro, viró a color naranja; en el cultivo positivo para *M. hominis*, el indicador viró a rojo cereza, y, por último, cambió a amarillo intenso en el caso de presencia de *M. fermentans*. El medio de transporte remanente, formado por peptona en solución salina, debió permanecer transparente; contrariamente, la presencia de turbidez fue indicadora de contaminación.

3.2.3. Técnica Histológica

Las muestras endometriales fueron procesadas siguiendo la técnica histopatológica de rutina obteniendo 2 portaobjetos que contenían 3 cortes histológicos del tejido endometrial de 5 µm de grosor; las muestras fueron desparafinadas colocándolas 12 horas en un horno a 70°C en posición horizontal y una vez transcurrido este tiempo se sometieron a las siguientes condiciones de desparafinación e hidratación de tejidos:

PASO	REACTIVOS	TIEMPO
1	Xilol	10 minutos
2	Xilol	10 minutos
3	Xilol	10 minutos
4	Xilol	5 minutos
5	Xilol	5 minutos
6	Etanol Absoluto	3 minutos
7	Etanol 96 %	3 minutos
8	Etanol 80%	3 minutos
9	Etanol 70%	3 minutos
10	Agua destilada	3 minutos

Una vez concluido este protocolo, a uno de los cortes histológicos se le aplicó la tinción con Hematoxilina y Eosina en las condiciones que a continuación se describen.

1. Se procedió a teñir en Hematoxilina de Harris recientemente filtrada, exponiendo las preparaciones al reactivo durante 6 minutos.
2. Se lavó con agua corriente durante 2 minutos.
3. Se diferenció en alcohol ácido al 1% con 2 inmersiones en el reactivo.
4. Se realizó un lavado rápido en agua corriente.

5. Se colocaron las preparaciones en una solución débil de agua amoniacal, hasta que el tejido adquirió una tonalidad azul brillante.
6. Se lavó vigorosamente empleando agua corriente durante 10 minutos.
7. Se colocaron en etanol al 80% durante 2 minutos.
8. Se realizó el contraste con solución de Eosina durante 2 minutos.
9. Se realizó la deshidratación y aclaramiento exponiendo a los reactivos y tiempos que a continuación se mencionan:

PASO	REACTIVOS	TIEMPO
1	Etanol al 70%	3 minutos
2	Etanol al 70%	3 minutos
3	Etanol al 96%	3 minutos
4	Etanol al 96%	3 minutos
5	Etanol absoluto	3 minutos
6	Etanol absoluto	3 minutos
7	Xilol	5 minutos
8	Xilol	5 minutos
9	Xilol	5 minutos

10. Como último paso se realizó el montaje de las preparaciones empleando resina sintética.

Nota: Los resultados esperados de esta tinción fueron los siguientes:

ESTRUCTURA CELULAR	COLOR
Núcleos	Azul
Citoplasmas	Rosa a Rojo
Tejido conectivo	Rosa a Rojo

3.2.4. *Detección de Chlamydia en los Cortes Histológicos de Tejido Endometrial*

A los 33 cortes histológicos obtenidos de las mujeres incluidas en el estudio se les aplicó la reacción de inmunofluorescencia directa para la búsqueda de *C. trachomatis*, utilizando un anticuerpo monoclonal *anti-C. trachomatis* (Chlamydia Direct IF (ID), BioMerieux, Francia).

Los portaobjetos con los tejidos se incubaron con el anticuerpo monoclonal fluorescente *anti-Chlamydia* durante 30 minutos a temperatura controlada de 25°C y humedad. Después se retiró el exceso de reactivo con una solución Buffer PBS (Na₂HPO₄

2H₂O; KH₂PO₄; NaN₃) a pH 7,2 por 5 minutos a temperatura ambiente, inmediatamente se lavaron las laminillas con agua destilada por 5 minutos y se desecaron en incubadora a 37°C por 15 minutos. Finalmente se colocó el cubreobjetos sellándose con una gota de glicerol. Las muestras se observaron con un microscopio de fluorescencia (Axiostar, Carl Zeiss, Göttingen, Alemania), empleando objetivo de 63X y ocular de 10X con cifra de campo 18. Para cada observación se verificó la calidad del reactivo procesando un portaobjetos de control negativo y uno de control positivo (Chlamydia Direct IF(C+/C-), BioMerieux, Francia).

3.2.5. *Análisis Estadístico*

Como se ha señalado anteriormente, se creó una base de datos informatizada utilizando el programa Excel (Microsoft Office, Versión 2007). Los datos fueron recogidos de la historia clínica, de las pruebas de laboratorio aplicadas y del análisis histopatológico realizado a los tejidos. Una vez depurada la base de datos se realizó el análisis estadístico utilizando el programa estadístico SPSS 17 (SPSS Inc, Chicago, EE.UU.).

3.2.5.1 Estadística Descriptiva

Las variables cualitativas se resumieron mediante el cálculo de frecuencias absolutas de para cada modalidad y relativas expresadas en porcentajes. En el caso de variables cuantitativas, se procedió al cálculo de medidas de tendencia central media y/o mediana y de dispersión desviación estándar. Las representaciones gráficas utilizadas estuvieron en función del tipo de variable diagrama de barras o sectores en el caso de variables cualitativas e histograma en el caso de variables cuantitativas.

4. RESULTADOS

Como se ha indicado con antelación durante el planteamiento del método estadístico, los resultados que a continuación se presentan se han analizado desde un aspecto puramente descriptivo, aportando datos individualizados de frecuencias de cada una de las modalidades de los diferentes parámetros clínicos e histopatológicos evaluados.

4.1. DATOS CLÍNICOS

Se consideró como población de estudio una serie de 400 parejas que acudieron a la consulta clínica de infertilidad conyugal, en el periodo comprendido de diciembre del 2002 a diciembre del 2010. Se seleccionaron los casos de pacientes a los que se les practicó biopsia de endometrio y de ellos se consideró una muestra representativa constituida por 29 casos los cuales cumplieron con los criterios de inclusión previamente descritos y que contaban con historia médica clínico-ginecológica y de medicina de la reproducción.

El total de pacientes seleccionadas contaban con el estudio microbiológico mediante cultivo selectivo para la identificación de *Ureaplasma urealyticum* (Figura 1) y/o prueba de inmunofluorescencia directa para la detección de *Chlamydia trachomatis* (Figura 2), ambas realizadas en secreciones cérvico-vaginales y cepillado del endocérvix uterino.



Figura 1. Identificación microbiológica de *Ureaplasma urealyticum* en exudado cervico vaginal y endocervical, Cultivo positivo para *U. urealyticum*. Sistema de identificación bioquímica "Mycoplasma IST 2".

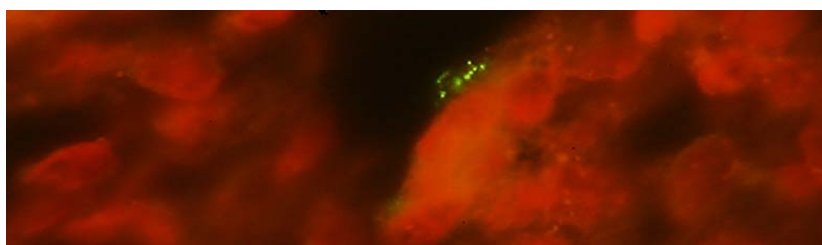


Figura 2. Deteccion de *C. trachomatis* con Anticuerpos monoclonales marcados con isotiocianato de fluoresceina (verde) contrastados con Azul de Evans (fondo rojo). Microscopia de Fluorescencia, 63x.

Dentro de los resultados del estudio demográfico se encontró que la edad de las pacientes varió entre 25 y 38 años, con una media de 31,5 años; la edad promedio de los cónyuges fue de 28 a 50 (con una media de 34,3 años).

En el estudio ginecológico, al 100% de las pacientes se le diagnosticó la presencia de un proceso infeccioso activo en el tracto genitourinario. En el 93% de las pacientes estudiadas se observó alguno de los parámetros clínicos considerados indicativos de un proceso infeccioso activo. El 100% de ellas referían la sensación de prurito y ardor vaginal como síntoma principal, que en el 89,7% de los casos se asoció con la presencia de secreción vaginal anormal, presente fuera del periodo ovulatorio y del período menstrual. En cuanto las características de la secreción vaginal que referían las pacientes, el 82,8% (24 de las 29 pacientes), describieron la emisión vaginal de un material hiperviscoso cristalino o ligeramente amarillento, que en algunos casos fue de apariencia ligamentosa (Figura 3); el 86,2% (26 pacientes) refirieron secreción vaginal amarilla mucosa o semilíquida; el 79,3% (23 pacientes) secreción vaginal blanca mucosa o en grumos y en menor proporción, un 6,9% de las pacientes presentaron secreción vaginal verde.

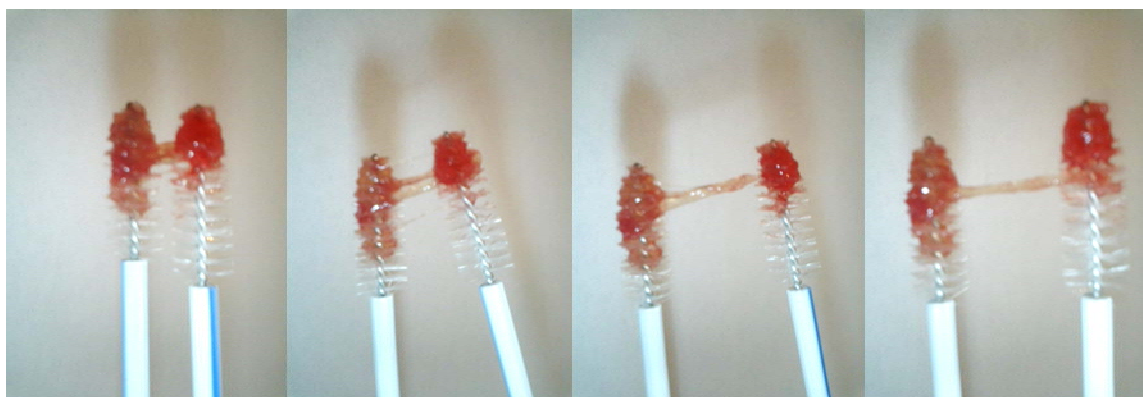


Figura 3. Cepillo citológico con secreción tomada del conducto cervical de aspecto cristalino con contenido hemático, hiperviscoso y de apariencia ligamentosa, característico de la infección por *C. trachomatis*. Imagen Macroscópica 2x.

Globalmente el 93,1% (27 de las 29 pacientes) presentó sangrado menstrual atípico, considerado así, al de contenido mucoso abundante, denso, con coágulos grandes o numerosos y restos de tejido o membranas. El sangrado menstrual de color rojo oscuro o café rojizo, precedido y/o seguido de secreción vaginal café claro ó café obscura (Figura 4), de duración variable desde unas horas hasta varios días y de apariencia variable desde líquida o mucosa hasta seca y grumosa, se consideró también propio del sangrado

menstrual atípico, referido por un elevado porcentaje de las pacientes. Aunque no forma parte de los objetivos de ésta tesis el monitoreo clínico como parte del seguimiento del padecimiento, confirmó la importancia de éste signo como parte de la definición de la endometritis crónica, en base a su corrección después del tratamiento antibiótico.

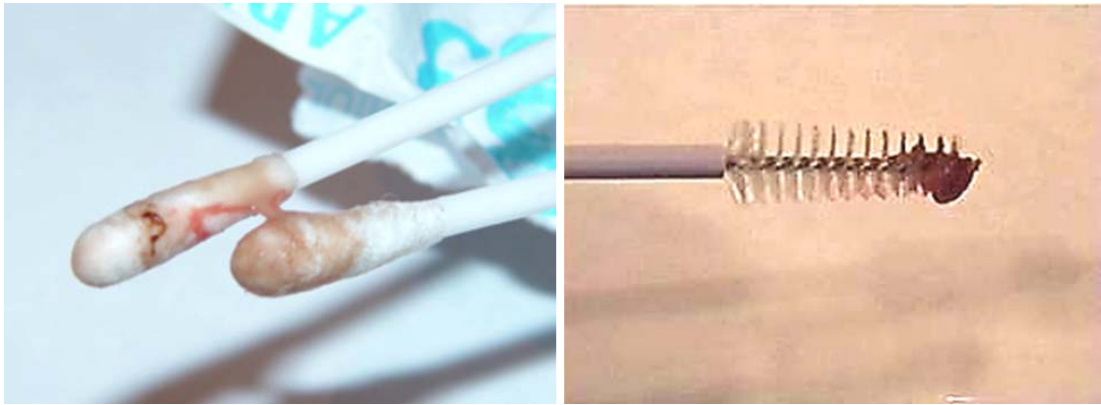


Figura 4. Secreción perimenstrual atípica café claro o café oscura de apariencia variable desde líquida o mucosa hasta seca y grumosa observada en la endocervicitis y endometritis comúnmente presente en pacientes con infección por *Micoplasmas* y *Clamidia*. Imagen Macroscópica 2x.

Además de los signos y síntomas antes mencionados que se detectaron en el momento de la evaluación clínica de las pacientes, en el interrogatorio intencionado, refirieron la presencia de datos clínicos que hacen referencia a síndromes de comportamiento crónico de presentación sub-aguda y exacerbaciones episódicas. Entre ellos podemos mencionar que al momento del estudio clínico, el 20,7% de las pacientes presentaban un cuadro sugestivo de inflamación pélvica crónica: dolor agudo, punzante en todo el hipogastrio o localizado en las fosas ilíacas y asociado con distensión abdominal sin que hubiera trastornos en el hábito intestinal, lo que descartó la colitis como origen. Además de esto el 17,3% de las pacientes presentaron en la exploración vaginal, ulceración o erosión de la superficie externa del cérvix uterino, así como abscesos de 1 a 2 mm de diámetro y eritema periorificial del cérvix. (Figura 5); en el 14% de las pacientes se detectó disminución marcada del calibre del orificio externo del cérvix uterino (Figura 5), con estenosis del conducto cervical, que solo permitió el paso del hisopo uretral cuyo calibre es de 2 mm. Generalmente la estenosis del conducto cervical se acompañó de inflamación del endocérvix y sangrado provocado por el cepillado en la toma de muestra para la prueba de IFD para *C. trachomatis*. En otro porcentaje similar las pacientes presentaron cervicitis hipertrófica mucopurulenta con cierre casi total del conducto cervical en la que solo pudo introducirse la punta del hisopo uretral al interior del cuello del útero. La presencia de

ectoprión, pólipos del endocérvi, y localización excéntrica del cuello uterino, representativa de distopia uterina fueron observaciones indicativas de cronicidad del proceso inflamatorio e infeccioso.

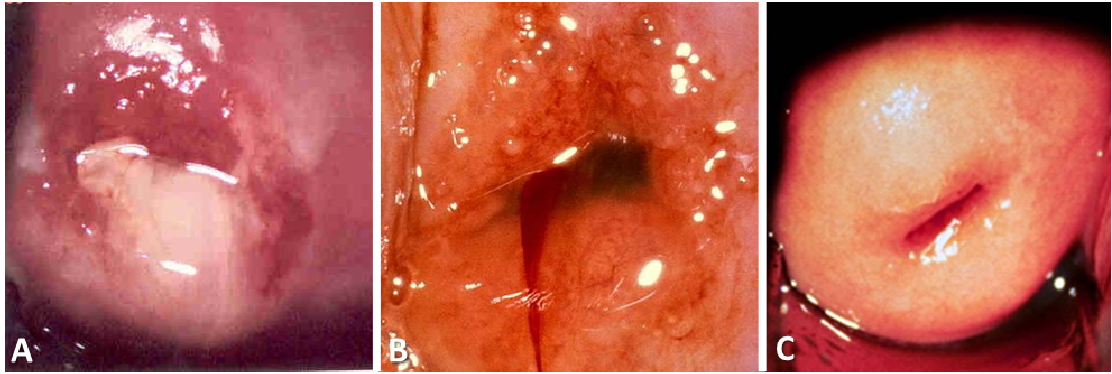


Figura 5. Superficie externa del cérvix uterino. **A.** Secreción endocervical blanquecina y superficie externa granulosa y eritematosa. **B.** Sangrado menstrual rojo oscuro de contenido mucoso con inflamación, abscesos y eritema periorificial del cérvix. **C.** Disminución del calibre del orificio externo del cérvix. Imagen Macroscópica 3x.

Como antecedente referido por las pacientes, el 20,6% tenían el diagnóstico de enfermedad pélvica inflamatoria, al 27,6% de ellas se les había practicado una laparoscopia exploradora con el hallazgo de endometriosis o endometriomas o inflamación tubaria (Figura 6) y en el 7% mediante este procedimiento se evidenció la presencia de obstrucción tubaria uni o bilateral y de adherencias pélvicas.

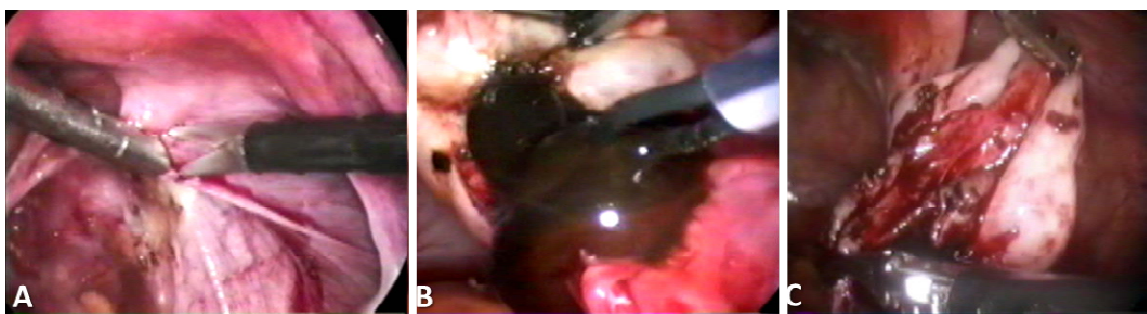


Figura 6. Endometrioma detectado mediante una cirugía laparoscópica. **A y B.** Cauterización de nódulos endometriósicos y liberación de secreción café espesa. **C.** Extracción de la capsula endometrial. Imágenes correspondientes a uno de los casos estudiados en esta serie.

Dentro del estudio de los antecedentes de reproducción, se encontró que el 96,5% (28 de las 29 de las pacientes estudiadas) padecían infertilidad primaria; mientras que solo una

de las pacientes (4,5%) ya había procreado un hijo y tenía más de un año de intentar el segundo embarazo sin lograrlo, condición que es considerada como infertilidad secundaria.

En cuanto a tratamientos para la infertilidad, observamos que el 41,4% de las pacientes habían sido sometidas a algún tipo de tratamiento de reproducción, habiéndose practicado en el 51,7% de ellas, de una a cuatro inseminaciones intrauterinas (IIU). El 10,3% de las pacientes habían sido tratadas mediante fertilización *in vitro* y en el 6,9% se realizó la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). En ninguno de los casos el tratamiento de inseminaciones o de reproducción asistida dio un resultado favorable.

Como complicaciones obstétricas, encontramos que de las 29 pacientes que se interrogaron al respecto, 12 (41,3%) refirieron haber sufrido al menos una pérdida del primer trimestre de la gestación (aborto temprano), como parte del problema de fertilidad; 5 mujeres habían tenido una pérdida gestacional, 4 tenían dos, 2 refirieron tres abortos consecutivos y una paciente había presentado antes de llegar a nuestra consulta, 4 abortos. De las pacientes que refirieron haber logrado el embarazo antes de acudir a ésta evaluación clínica y de laboratorio, 7 pacientes no tuvieron ningún tipo de tratamiento previo y en 5 pacientes el embarazo se logró después de un tratamiento de reproducción asistida: 4 con inseminación intrauterina y 1 con FIV/ICSI. El embarazo ectópico se presentó en tres pacientes de la serie estudiada (10.34%), y en uno de esos casos, esta complicación se presentó después de una inseminación intrauterina.

En la Figura 7 se resumen los resultados de la evaluación detallada de los antecedentes ginecológicos asociables al proceso infeccioso ocasionado por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*.

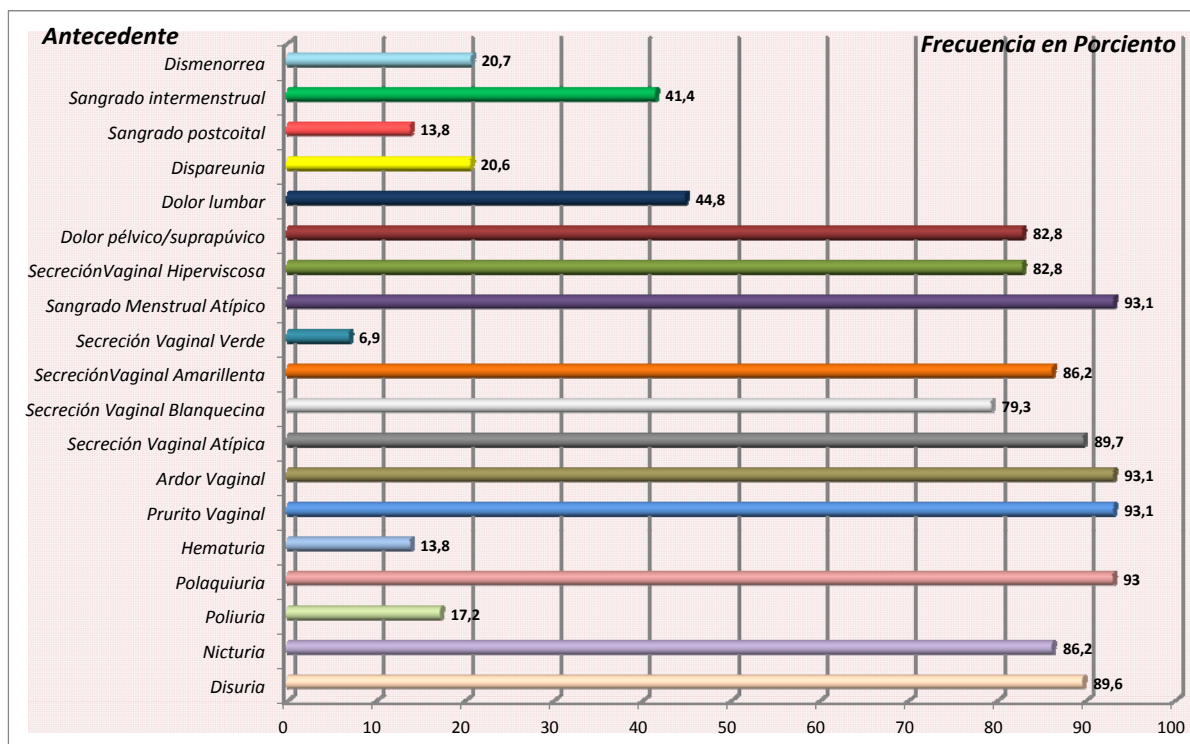


Figura 7. Antecedentes ginecológicos asociables al proceso infeccioso ocasionado por *C. trachomatis* y *U. urealyticum*.

4.2. RESULTADOS HISTOPATOLÓGICOS

La valoración histopatológica empleando la tinción rutinaria de Hematoxilina-Eosina (HE), se centró en la detección de partículas bacterianas de morfología compatible con *Chlamydia spp.* y de *Ureaplasma spp.* de acuerdo a las descripciones previas, las cuales estuvieron presentes en todos los casos estudiados y que se señalan en las figuras 9 a 40, que ilustran los resultados de esta tesis.

Partículas bacterianas de forma esférica o bacilar, con diámetro de 0,2 micras, se consideraron compatibles por su forma y dimensiones con bacterias pleomórficas de la especie *Ureaplasma*; esférulas de 0,2 a 0,5 micras de diámetro, de contorno regular y rodeadas de un halo periplasmático característico, fueron consideradas como cuerpos elementales de *Chlamydia*, de acuerdo a las descripciones morfológicas existentes de este germen. A todos los casos incluidos en este estudio se les realizó la prueba de Inmunofluorescencia directa para la detección de *C. trachomatis* en cortes histológicos previamente teñidos con hematoxilina de Harris, con el propósito de co-localizar la zona de positividad de la IFD y las observaciones histopatológicas. Los resultados se ilustran en la figura 8.

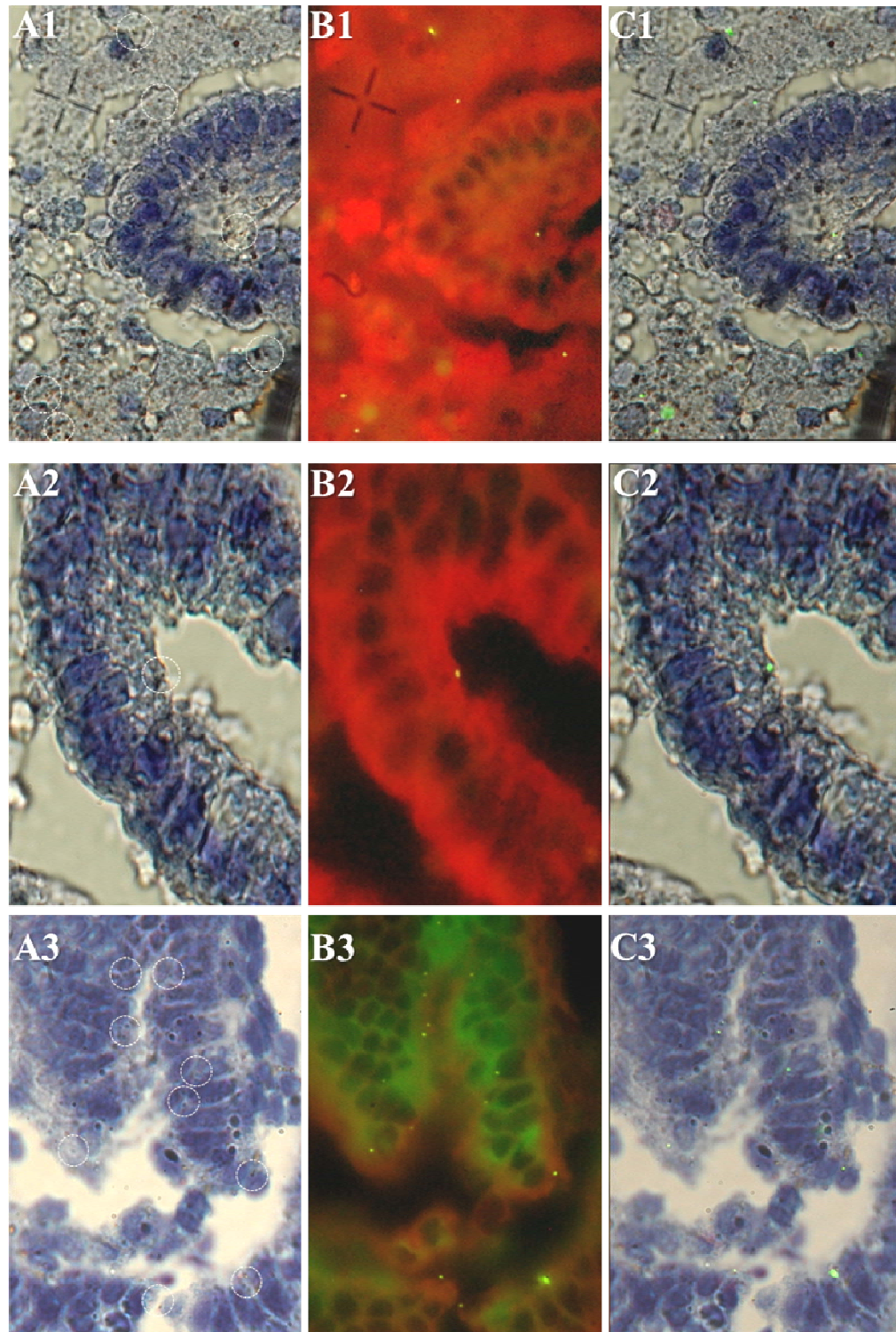


Figura 8. Presencia de Cuerpos Elementales de *Chlamydia trachomatis* y su comparación con las observaciones realizadas en el corte histológico incluido en parafina, teñido con hematoxilina de Harris y anticuerpos contra *Chlamydia trachomatis* marcados con Isotiocianato de fluoresceína. **A1, A2 y A3** imagen de campo claro (63x) en el que se observan bacterias de morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (círculo punteado). **B1, B2 y B3** imagen de IFD donde se observa la señal de fluorescencia positiva para *C. trachomatis* (color verde) sobre un fondo rojo (contraste de azul de Evans), Microscopio de Fluorescencia, 63x. **C1, C2 y C3** superposición de la imagen de campo claro y la señal de fluorescencia positiva contra *C. trachomatis*.

Otra de las características histopatológicas que con gran predominio fue observada en el tejido endometrial de las pacientes con infección genital por *Chlamydia spp.* y de *Ureaplasma spp* demostrada microbiológicamente, fue la presencia de células epiteliales reactivas (CER) tanto en las células del epitelio endometrial de revestimiento como en las células del epitelio glandular. En las figuras 36 y 37 se señala esta característica histopatológica, y en la Tabla 1 se presentan los datos de la evaluación semicuantitativa hecha para ésta alteración epitelial, que se pudo realizar en 13 de los 29 casos estudiados (44,8%). De acuerdo a ésta evaluación se concluyó que en el 30,76% las CER estuvieron presentes en una cantidad moderada y en el 69,24% fueron escasas.

Con respecto a la presencia de células hiperplásicas, observamos que en el grupo de pacientes estudiadas predominantemente se presentó hiperplasia epitelial simple sin atipia, este parámetro histopatológico se muestra en las figuras 29 y 34. Durante la evaluación semicuantitativa observamos que en 13 de los casos estudiados (44,8%), se presentó esta característica histopatológica, aunque en la mayoría de ellos (92,30%), el hallazgo fue escaso, mientras que en el 7,7% fue moderado. En la evaluación histopatológica de las biopsias endometriales se consideró también descartar la presencia de hiperplasia simple con atipia, sin embargo, no se presentó ningún caso; tampoco se corroboró la presencia de cambios indicadores de hiperplasia compleja (Tabla 1).

Otro parámetro distintivo del tejido endometrial del grupo de pacientes evaluadas fue la presencia de células inflamatorias intra-epiteliales. En la figura 21, 22 y 23 observamos linfocitos inmersos en el epitelio de revestimiento endometrial. Al realizar la evaluación semicuantitativa encontramos que en 7 casos (24,1%) se presentaron células inflamatorias intra-epiteliales de tipo linfocitarias, pero en todos ellos su concentración fue considerada como escasa. Por otro lado, al evaluar la presencia de células inflamatorias intra-epiteliales de tipo polimorfonucleares encontramos que estas estuvieron presentes en 7 casos (24,1%), en ningún caso la presencia de éstas células de inflamación fue abundante, mientras que el 14,29% fue moderada y en el 85,71% fue escasa (figura 13 y 33). Otras células inflamatorias de tipo macrófagos y plasmáticas de localización intra-epitelial, fueron consideradas en el estudio microscópico del tejido endometrial, sin embargo, no hubo evidencias de su presencia en ninguno de los casos estudiados. Los resultados anteriormente descritos se resumen en la tabla 1.

La presencia de infiltrado celular de tipo inflamatorio localizado en la periferia del epitelio endometrial, fue uno de los parámetros que adquirió gran importancia dentro de la evaluación histopatológica. El infiltrado sub-epitelial de tipo linfocitario estuvo presente en el 72% de los casos (21 de los 29), el 52,38% de los cuales fue cuantificado en escasa concentración, mientras que en el 47,62%, se consideró su presencia en concentración moderada (Tabla 1). Las figuras 13, 16, 17, 19, 22 y 26 corresponden a imágenes representativas de los resultados observados en el grupo de pacientes estudiadas, en las que se demuestra la presencia de células linfocíticas, con las características morfológicas típicas (célula pequeña, esférica, con citoplasma escaso y núcleo basófilo de cromatina condensada) y localizadas en el tejido conectivo estromal circundante al epitelio endometrial de revestimiento y en muchos de los casos en la periferia del tejido epitelial glandular.

Al valorar la presencia de células inflamatorias sub-epiteliales de tipo polimorfonucleares, observamos que el 72,4% (21 de los 29 casos) de las muestras estudiadas presentaban ésta característica histopatológica, de este total el 33,33% fue moderado y el 66,67% fue escaso (Tabla 1). En la figura 13,14 y 43 se presentan imágenes que corresponden a la presencia sub-epitelial de este tipo de infiltrado, en ellas podemos observar la localización característica de este tipo de células inflamatorias circundante a las células epiteliales principalmente, en algunos casos el infiltrado de polimorfonucleares se observó disperso entre el tejido conectivo estromal y en algunos casos la localización fue sobre la periferia del epitelio glandular.

En algunos casos se observó la presencia de células inflamatorias de tipo plasmocíticas inmersas en el tejido conectivo estromal, en la figuras 15, 16, 17, 19, 22, 26, 27, 28 y 41 se muestran imágenes representativas de los resultados en las cuales podemos observar células plasmáticas con su morfología típica, localizadas principalmente en la región estromal circundante al epitelio endometrial de revestimiento. Al realizar la valoración semicuantitativa obtuvimos como resultado que este tipo de células inflamatorias estuvieron presentes en 14 de los 29 casos estudiados (48,3%), en ningún caso la presencia células plasmáticas fue abundante, mientras que en el 14,29% fue moderada y en el 85,71% la presencia fue escasa. Estos resultados se resumen en la Tabla 1.

Uno de los parámetros característicamente observado en el tejido endometrial del grupo de pacientes estudiadas fue la presencia de edema intersticial con distinta intensidad. En las figuras 9, 10, 11, 18, 22, 24, 25, 35 y 36, se aprecia la presencia de esta alteración histológica del estroma endometrial, como se observa en las imágenes se presentan espacios con ausencia de material celular o fibrilar los cuales fueron remplazados por líquido tisular que forma parte del material edematoso. Este parámetro se observó en 25 de los 29 casos estudiados histopatológicamente (93,2%), y de este número en el 24% de los casos, la presencia de edema fue abundante, mientras que en el 44% el edema fue moderado y en el 32% leve o escaso. En la Tabla 1 se presentan los datos anteriormente descritos.

En algunos de los casos se observó la presencia de edema intra-epitelial, resultado de la extravasación de líquido tisular hacia el espacio intra-epitelial, el cual se observa como restos de material acuoso en los espacios intercelulares de la capa epitelial. En la figuras 11, 24 y 25, se muestran imágenes representativas de estos resultados.

En 2 de los casos (6,9%) se logró observar la presencia de centros germinales de células de la respuesta inmune, localizados principalmente en la periferia de las glándulas endometriales con alteraciones morfológicas evidentes; en la figura 27 y 28, se presentan imágenes representativas de esta alteración histológica.

La presencia de espongiosis celular fue otro de los parámetros evaluados que constantemente fue observado en el tejido endometrial de las pacientes estudiadas, este marcador de daño histológico estuvo presente en el 62,1% (18 de los 29 casos estudiados), en el 22,23% del total de los casos positivos la espongiosis fue moderada y en el 77,77% fue escasa (Tabla 1). En las figuras 30 y 31, se presentan imágenes representativas que ilustran esta alteración celular, la cual se caracteriza por vacuolización intracitoplásmica de las células epiteliales tanto de la capa de revestimiento endometrial, como en las células del epitelio glandular.

Se observó además con alta frecuencia, la presencia de epitelio denudado y pérdida de la continuidad epitelial, estas alteraciones se caracterizaron por la ausencia de la capa de recubrimiento epitelial en algunas regiones de la superficie endometrial. En las figuras 9, 10, 18 y 20, se pueden observar estas alteraciones tisulares. Al realizar la valoración de la frecuencia con la que se presentaron estas alteraciones histológicas, encontramos que en el

69% (20 del total de los casos estudiados) se presentó denudación epitelial, siendo de intensidad moderada en el 55% y escasa en el 45% de los casos, estos resultados se resumen en la tabla 1.

En las figuras 29, 30, 32, 42, 44 se muestra un hallazgo histológico que fue evidente en algunos de los casos del grupo de pacientes estudiadas: la pérdida del equilibrio tisular estromal, caracterizada por un desfase en el estadio celular de los componentes del estroma del endometrio y su concordancia con la fase de desarrollo glandular. Una de las características de esta alteración es la presencia de atrofia glandular así como de hiper celularidad estromal. El 10,3%, correspondiente a 3 de los casos estudiados presentaron desfasamiento aparente del estadio de los componentes endometriales (desfasamiento hormonal), en 2 de los casos el desfasamiento fue moderado y en uno fue escaso. Estos resultados se presentan en la tabla 1.

En la bibliografía se encuentra reportado que en los estadios crónicos de un proceso inflamatorio del endometrio, es posible observar alteraciones tisulares profundas como la presencia de centros germinales, tejido de granulación o úlceras necróticas, sin embargo, en nuestro grupo de pacientes estudiadas no logramos observar estas alteraciones tisulares.

PARÁMETRO HISTOPATOLÓGICO	PRESENCIA N (%)	FRECUENCIA DE PRESENTACIÓN		
		Escaso N (%)	Moderado N (%)	Abundante N (%)
<i>Células epiteliales reactivas</i>	13 (44,8)	9 (69,2)	4 (30,8)	0 (0)
<i>Hiperplasia simple con atipia</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Hiperplasia simple sin atipia</i>	13 (44,8)	12 (92,3)	1 (7,7)	0 (0)
<i>Hiperplasia compleja con atipia</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Hiperplasia compleja sin atipia</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Células inflamatorias intraepiteliales (linfocitos)</i>	7 (24,1)	7 (100)	0 (0)	0 (0)
<i>Células inflamatorias intraepiteliales (polimorfonucleares)</i>	7 (24,1)	6 (85,8)	1 (14,3)	0 (0)
<i>Células inflamatorias intraepiteliales (macrófagos)</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Células inflamatorias intraepiteliales (plasmocitos)</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Edema</i>	25 (93,2)	8 (32)	11 (44)	6 (24)
<i>Infiltrado inflamatorio subepitelial (linfocitos)</i>	21 (72,4)	11 (52,4)	10 (47,6)	0 (0)
<i>Infiltrado inflamatorio subepitelial (polimorfonucleares)</i>	21 (72,4)	14 (66,7)	7 (33,3)	0 (0)
<i>Infiltrado inflamatorio subepitelial (macrófagos)</i>	2 (6,9)	2 (100)	0 (0)	0 (0)
<i>Infiltrado inflamatorio subepitelial (plasmocitos)</i>	14 (48,3)	12 (85,7)	2 (14,3)	0 (0)
<i>Centros germinales</i>	2,6 (6,9)	2 (100)	0 (0)	0 (0)
<i>Tejido de granulación</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Úlceras necróticas</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Espongiosis</i>	18 (62,1)	14 (77,8)	4 (22,2)	0 (0)
<i>Denudación epitelial</i>	20 (69,0)	9 (45,0)	11 (55)	0 (0)
<i>Desfasamiento hormonal</i>	3 (10,3)	1 (33,3)	2 (66,7)	0 (0)

Tabla1. Resultados de la evaluación histopatológica del tejido endometrial de pacientes con endometritis por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*.

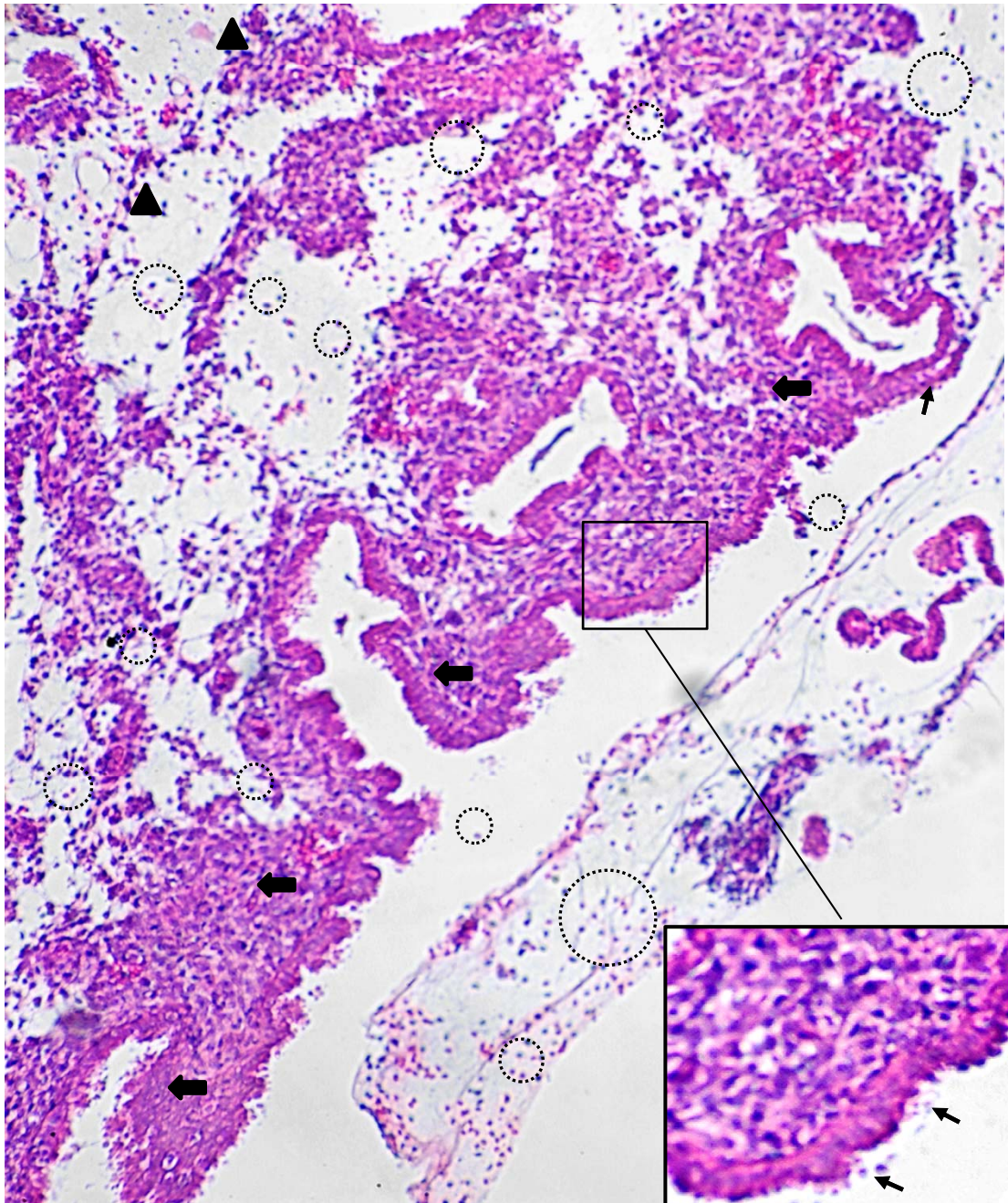


Figura 9. Tejido endometrial teñido con HE 10X. En la imagen observamos áreas focalizadas con denudación del epitelio de revestimiento (◄), en el estroma se presentan amplias zonas de tejido edematoso las cuales se extienden por todo el intersticio endometrial (▲). Aunado a estas alteraciones tisulares, observamos la presencia de bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (○) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (◄) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.*

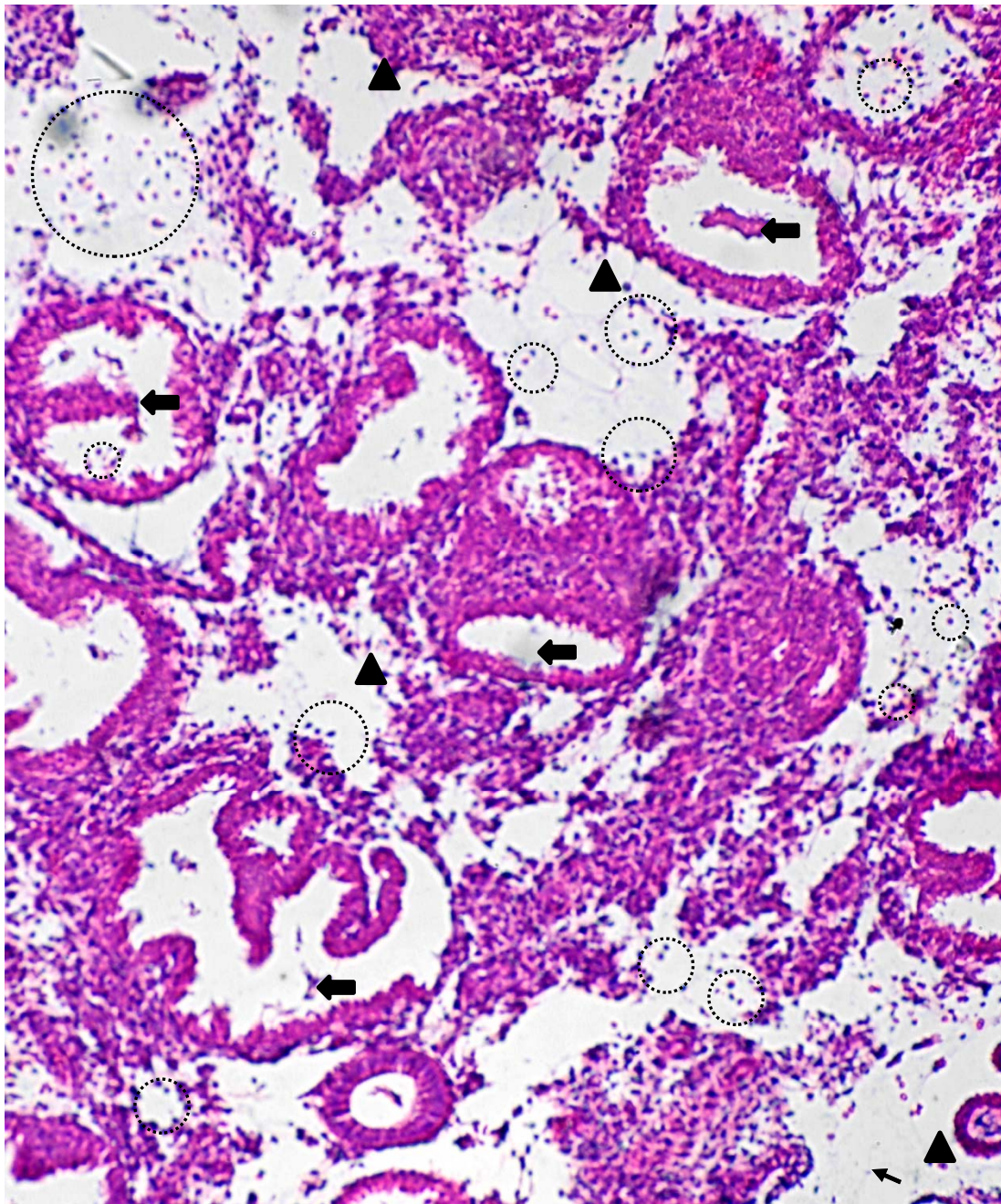


Figura 10. Tejido endometrial teñido con HE 10X. En la imagen observamos áreas con epitelio denudado localizado focalmente en algunas áreas del revestimiento endometrial (←), en el estroma se presentan amplias zonas de tejido edematoso las cuales se extienden por todo el intersticio endometrial (▲). Aunado a estas alteraciones tisulares, observamos la presencia de bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (⊙) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o coccobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (↖) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.*

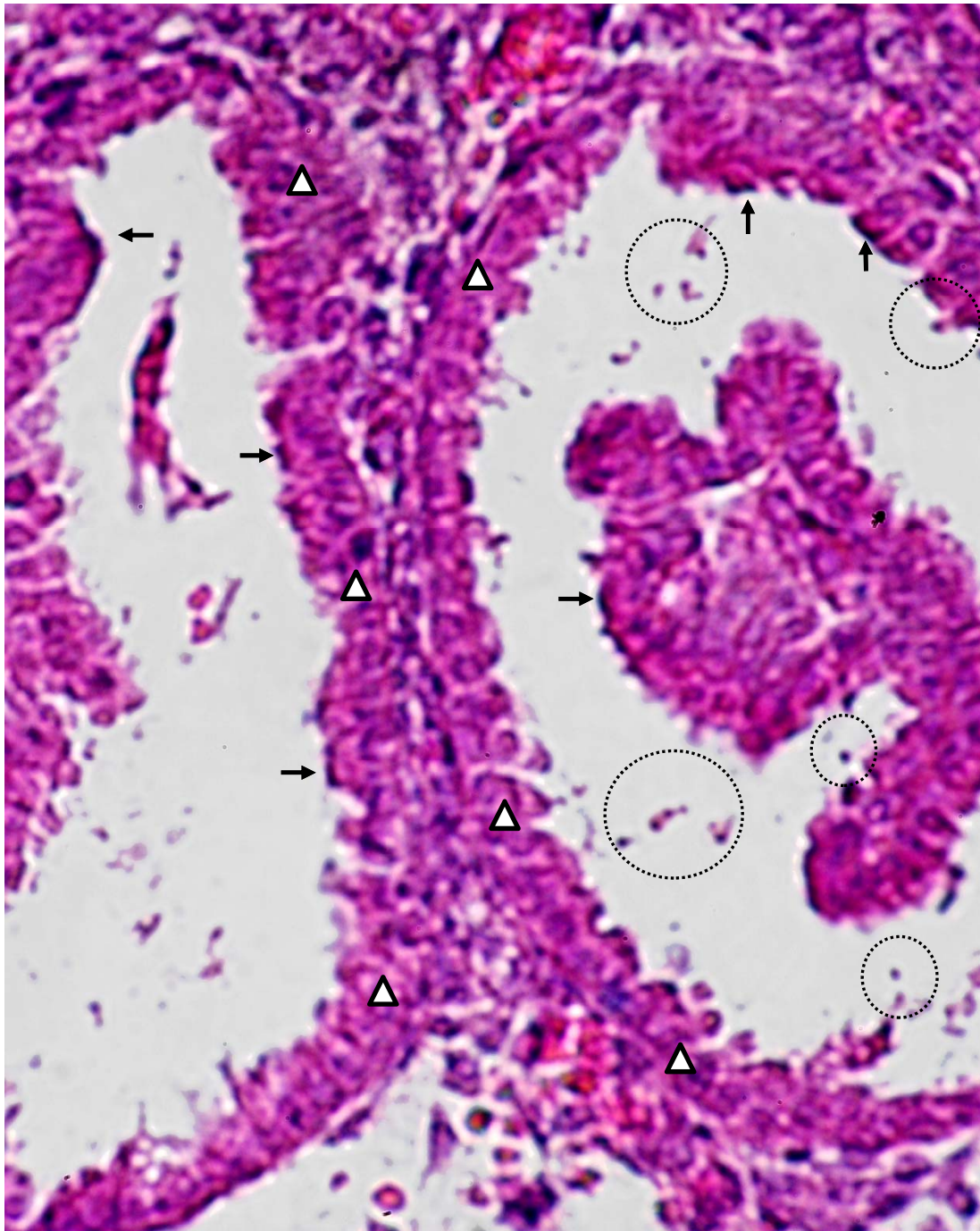


Figura 11. Tejido endometrial teñido con HE 40X. En la imagen observamos la presencia de edema intra-epitelial el cual se observa como restos de material acuoso en los espacios intercelulares de la capa epitelial. (Δ). Además de esta alteración tisular, también observamos la presencia de bacterias con morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (○) y bacterias de morfología compatibles con el genero *Ureaplasma spp* (↖).

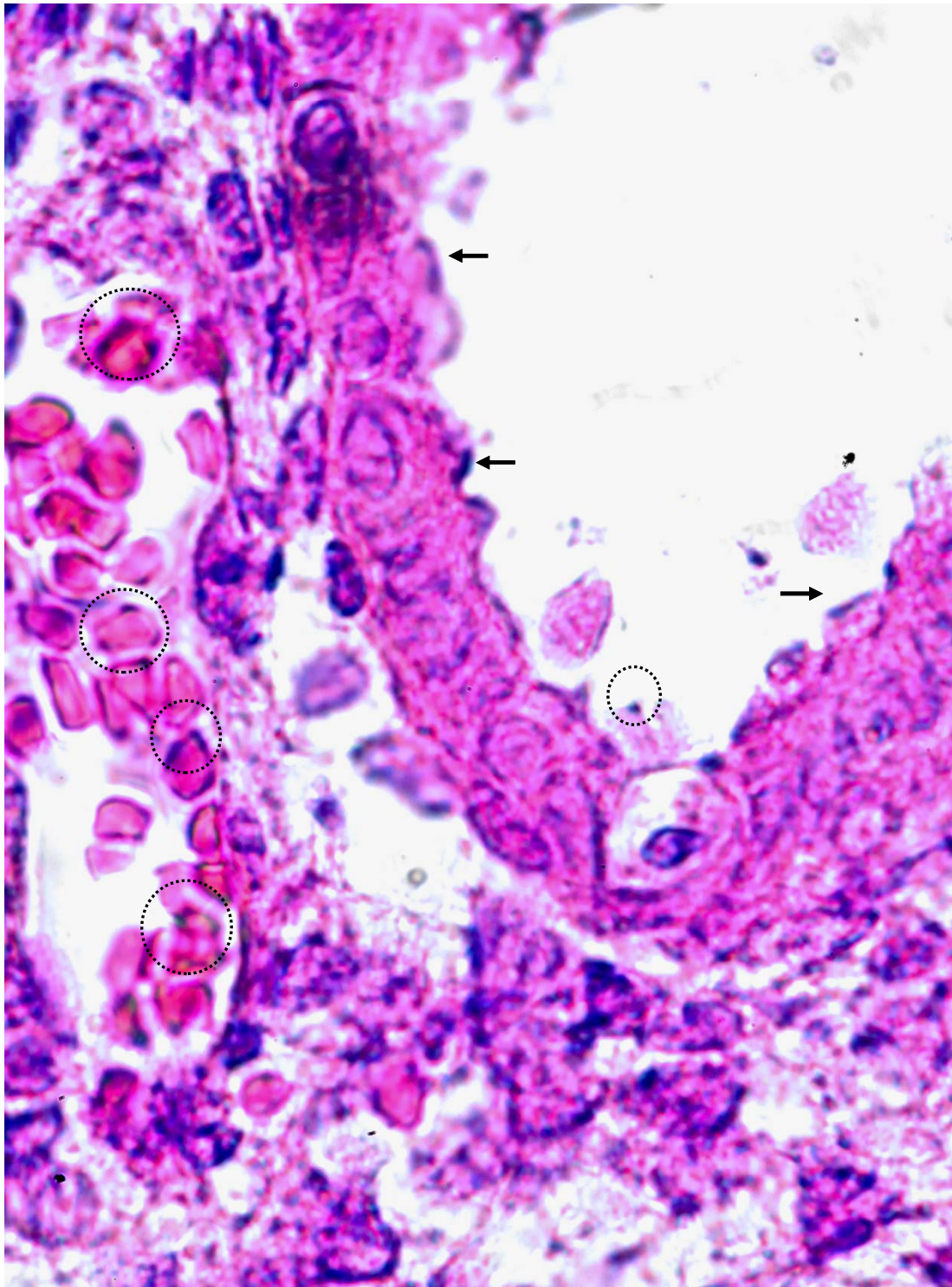


Figura 12. Tejido endometrial teñido con HE 100X. Se presenta una microfotografía en la que se logra observar la presencia de bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (○) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (↖) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.* Observamos además la presencia de eritrocitos con morfología atípica, con bacterias aparentemente adheridas a la membrana externa.

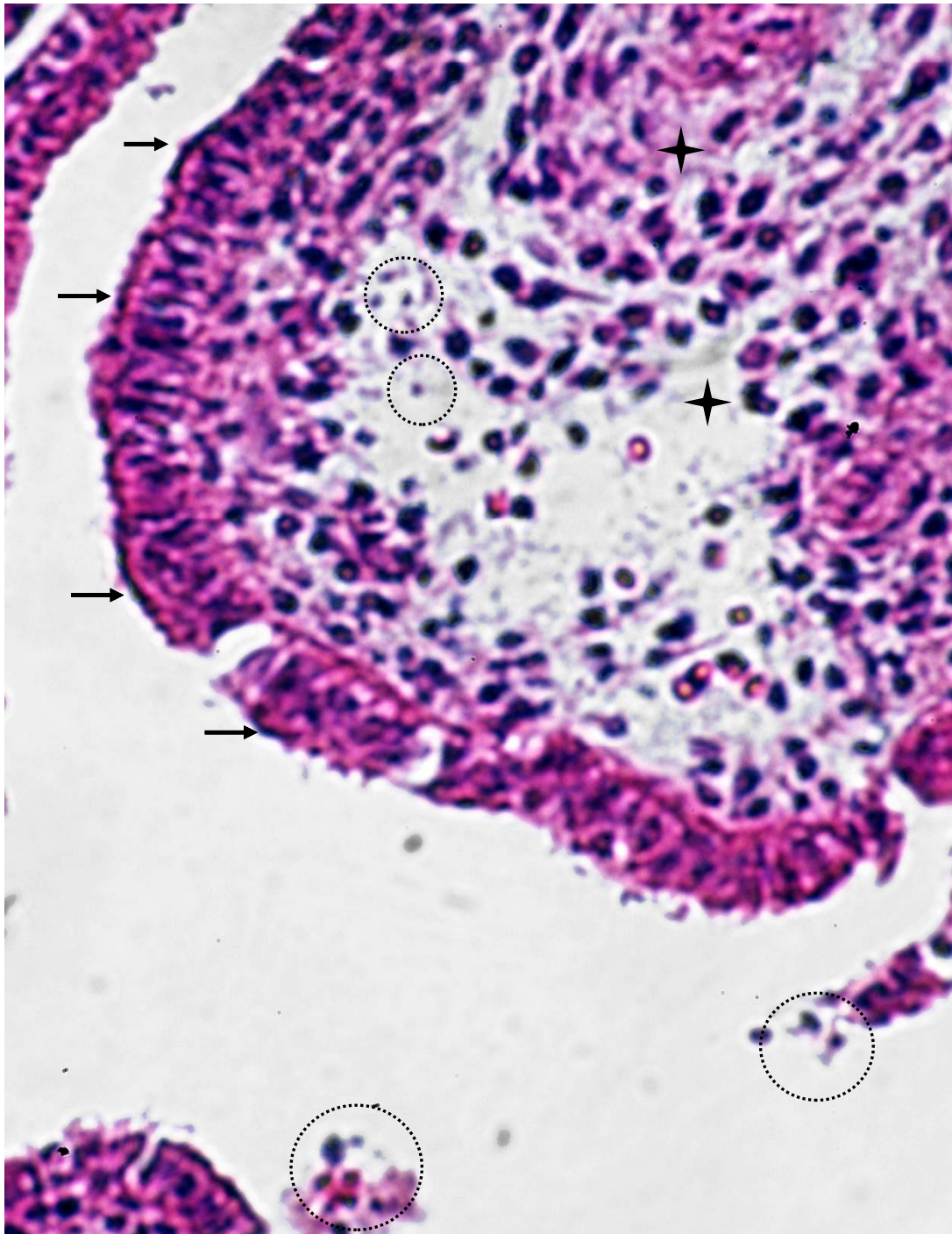


Figura 13. Tejido endometrial teñido con HE 40X. En la microfotografía podemos observar la presencia de infiltrado inflamatorio localizado en el intersticio estromal, predominantemente hay presencia de polimorfonucleares, linfocitos y células plasmáticas (★), así mismo se observa la presencia de bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (○) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (◐) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.*

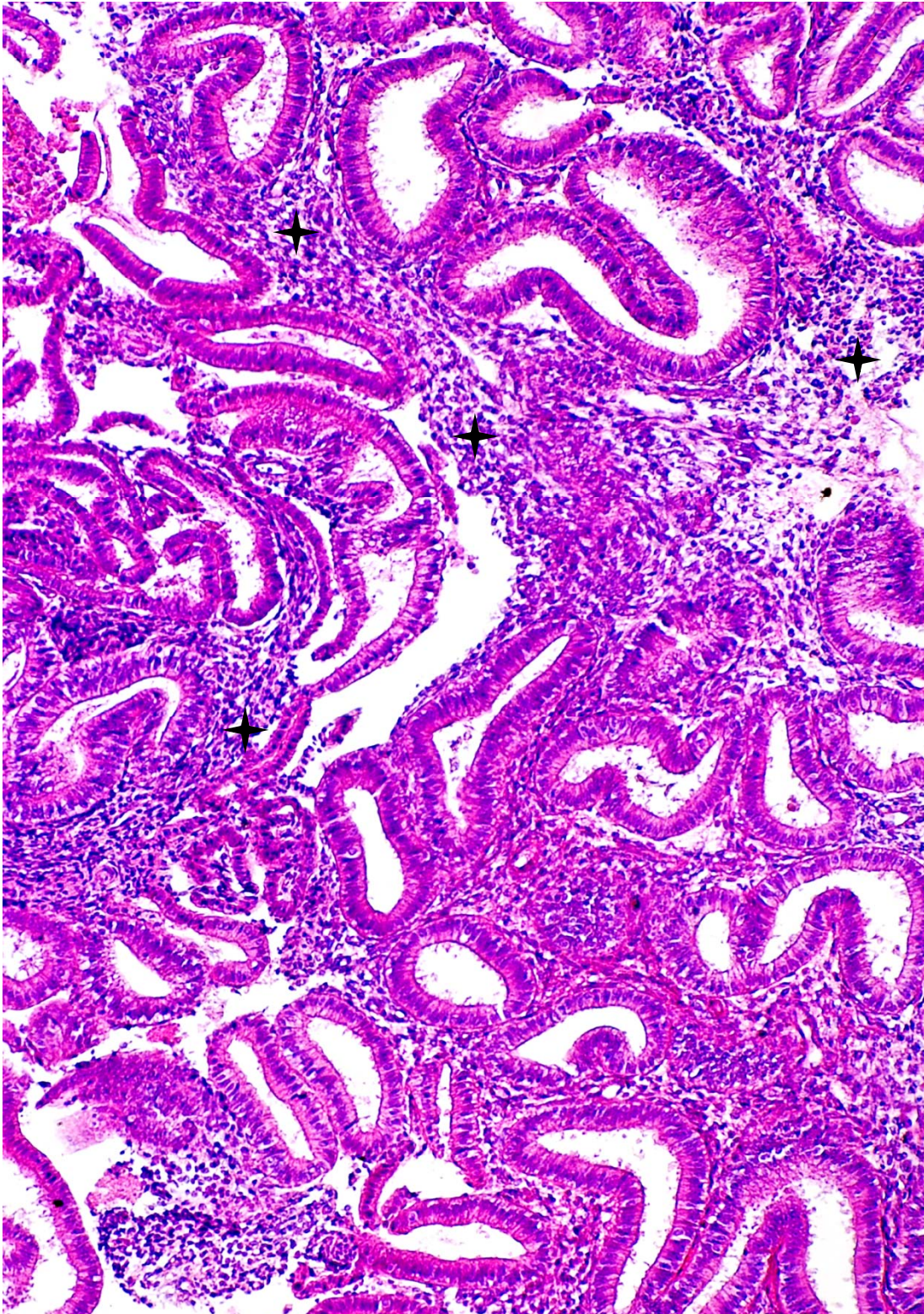


Figura 14. Tejido endometrial teñido con HE 20X. En la microfotografía podemos observar la presencia de un intenso infiltrado inflamatorio intersticial, en el que predominantemente hay presencia de células plasmáticas (★).

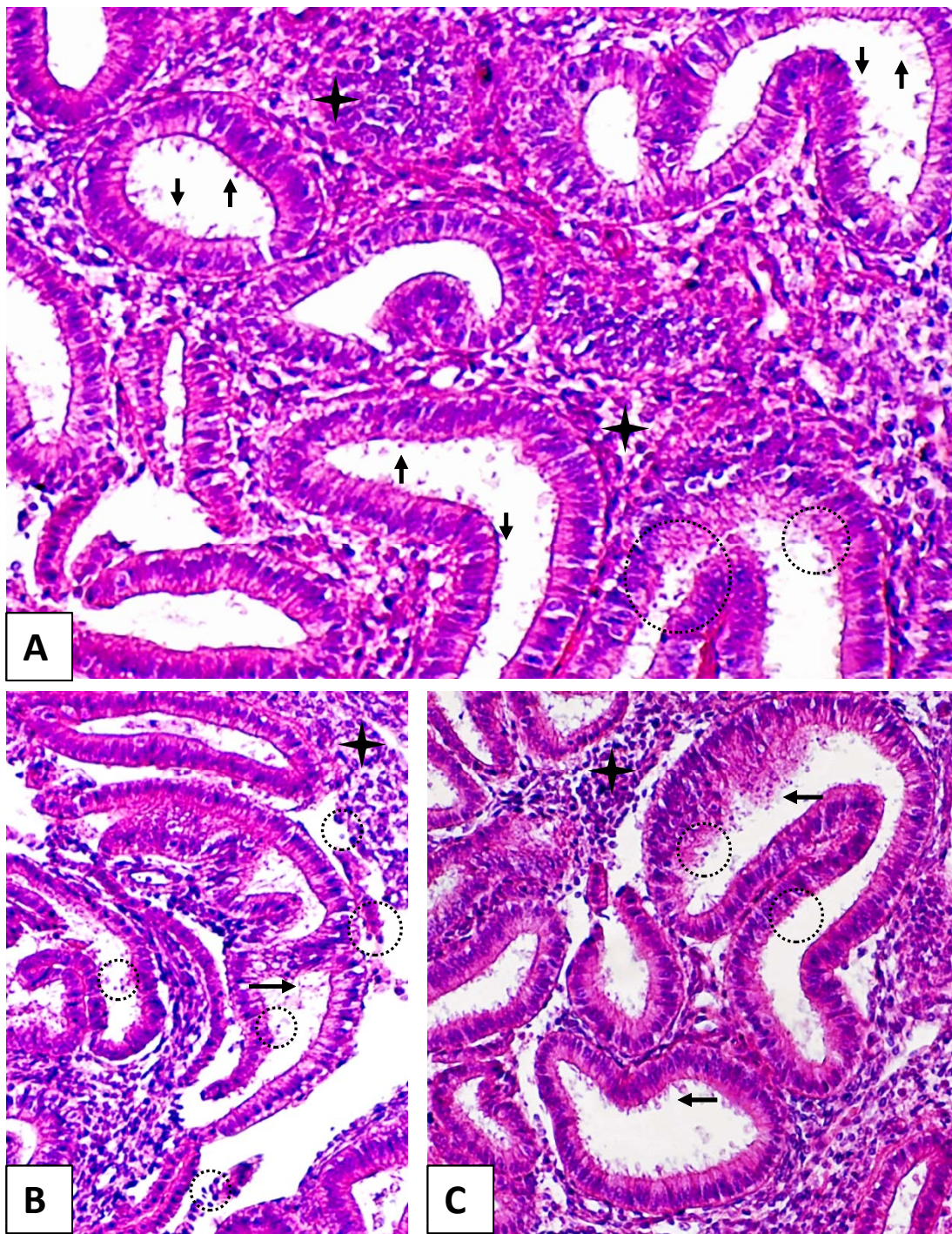


Figura 15 A, B y C. Tejido endometrial teñido con HE 20X. Observamos la presencia de infiltrado inflamatorio de células plasmáticas localizado en el intersticio estromal (★), así mismo se observa la presencia de bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (⊙) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (↖) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.*

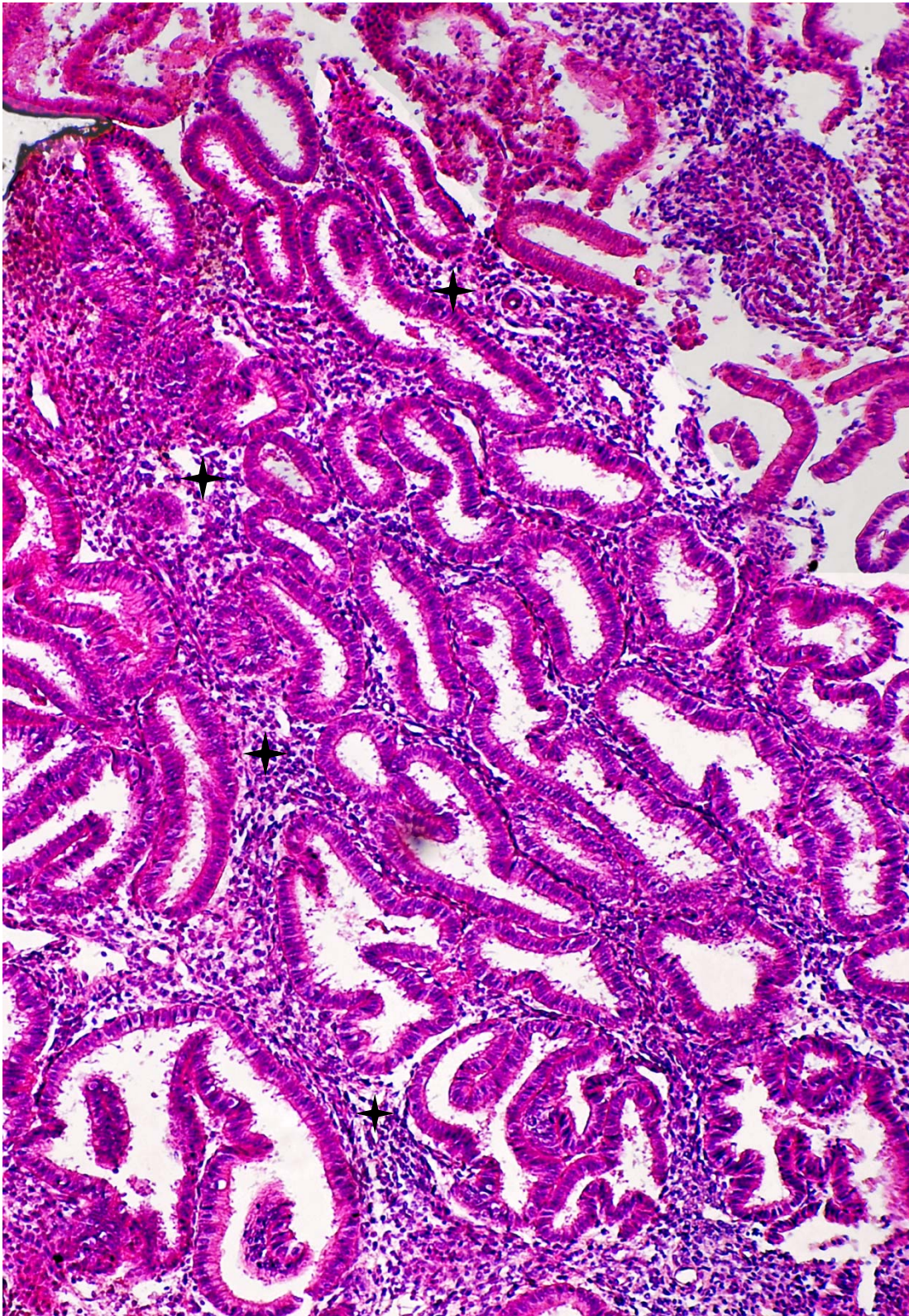


Figura 16. Tejido endometrial teñido con HE 10X. En la microfotografía podemos observar la presencia de infiltrado inflamatorio localizado en el intersticio de estroma endometrial, predominantemente hay presencia de linfocitos y células plasmáticas (✦).

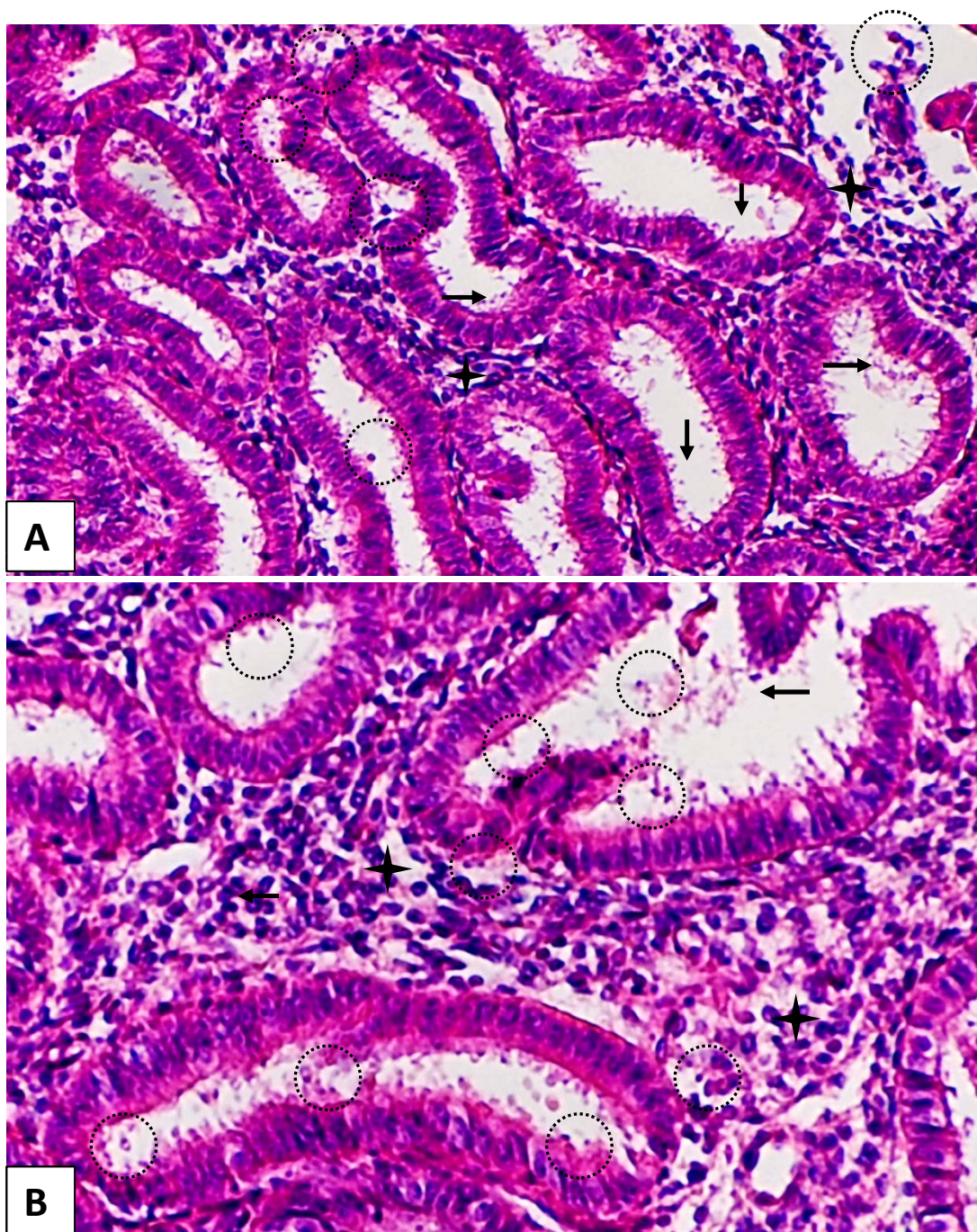


Figura 17 A y B. Tejido endometrial teñido con HE 40X. Imagen de una microfotografía en la que se ilustra la presencia de infiltrado inflamatorio localizado en el intersticio del estroma endometrial, se observa predominantemente la presencia de linfocitos y células plasmáticas (★), así mismo, también hay presencia de bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (⊙) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (↘) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.*

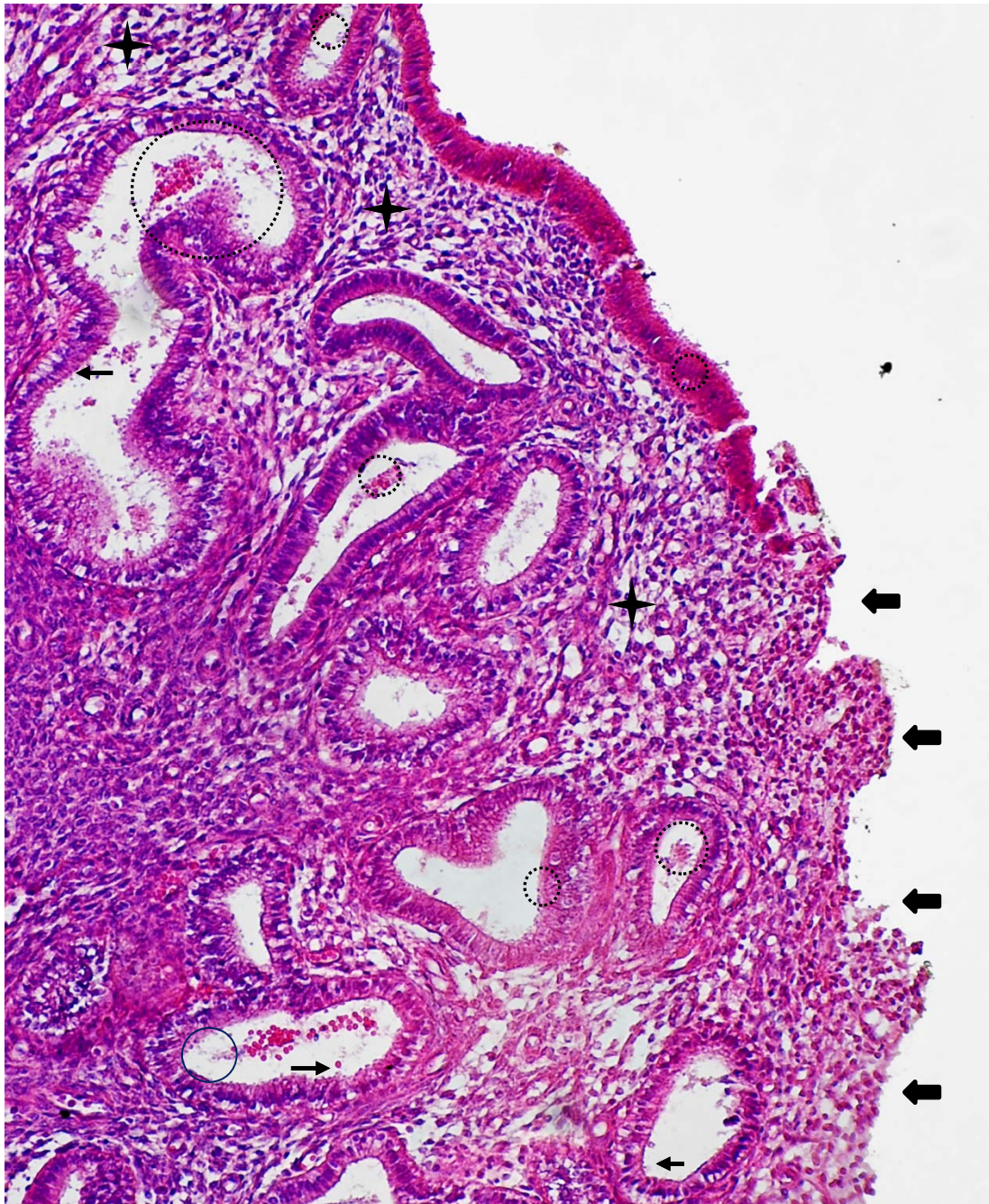


Figura 18. Tejido endometrial teñido con HE 20X. En la imagen observamos áreas con epitelio desnudo localizado en algunas áreas del revestimiento endometrial (↔), en el estroma se presentan amplias zonas de células inflamatorias, principalmente del tipo linfocitos y células plasmáticas tejido edematoso las cuales se extienden por todo el intersticio endometrial (★). Aunado a estas alteraciones tisulares, observamos la presencia de bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (⊙) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (↖) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.*

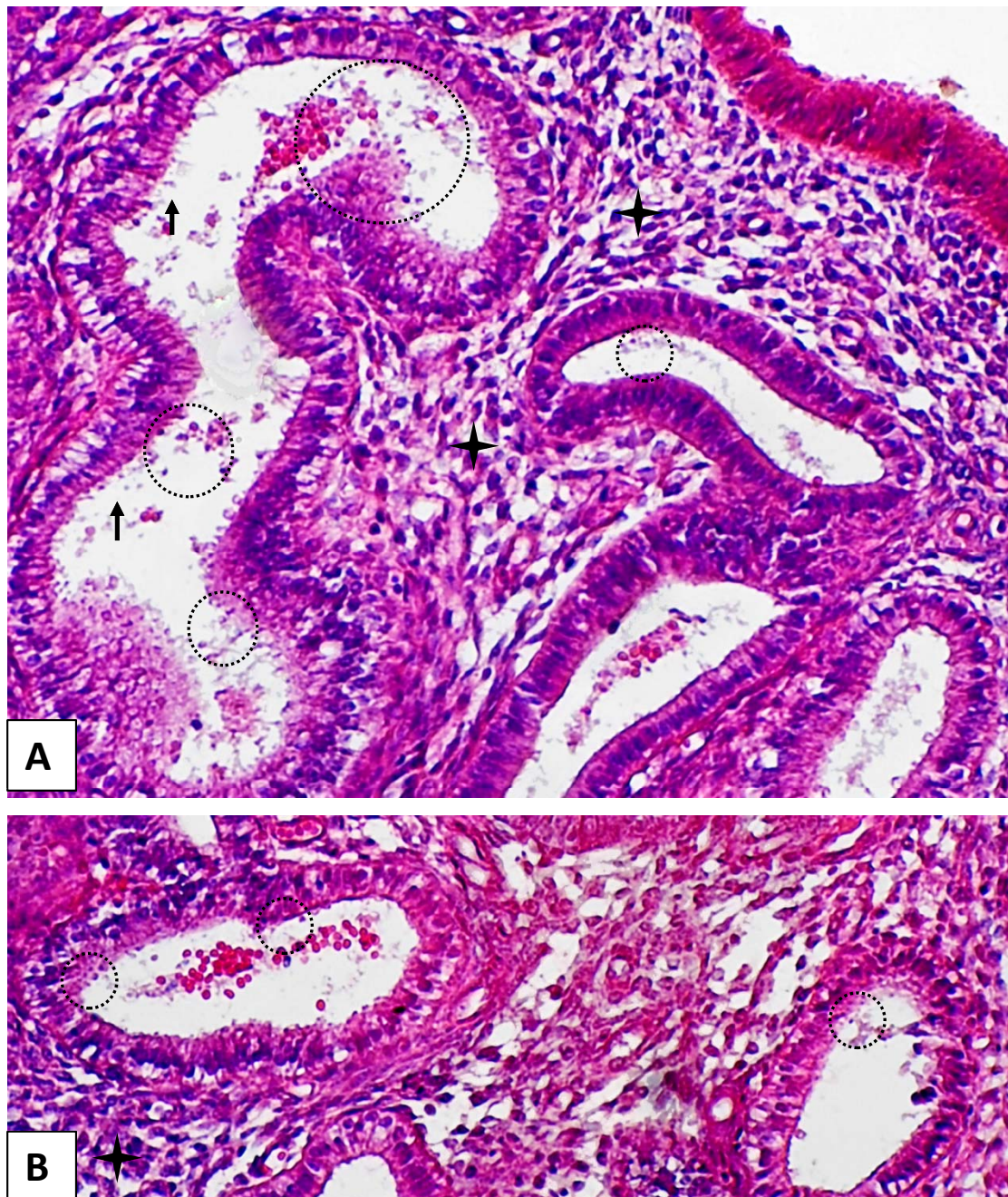


Figura 19 A y B. Tejido endometrial teñido con HE 40X. Imagen de una microfotografía en la que se ilustra la presencia de infiltrado inflamatorio de linfocitos y células plasmáticas (★), localizado en el intersticio del estroma endometrial, también hay presencia de bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (⊙) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (↖) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.*

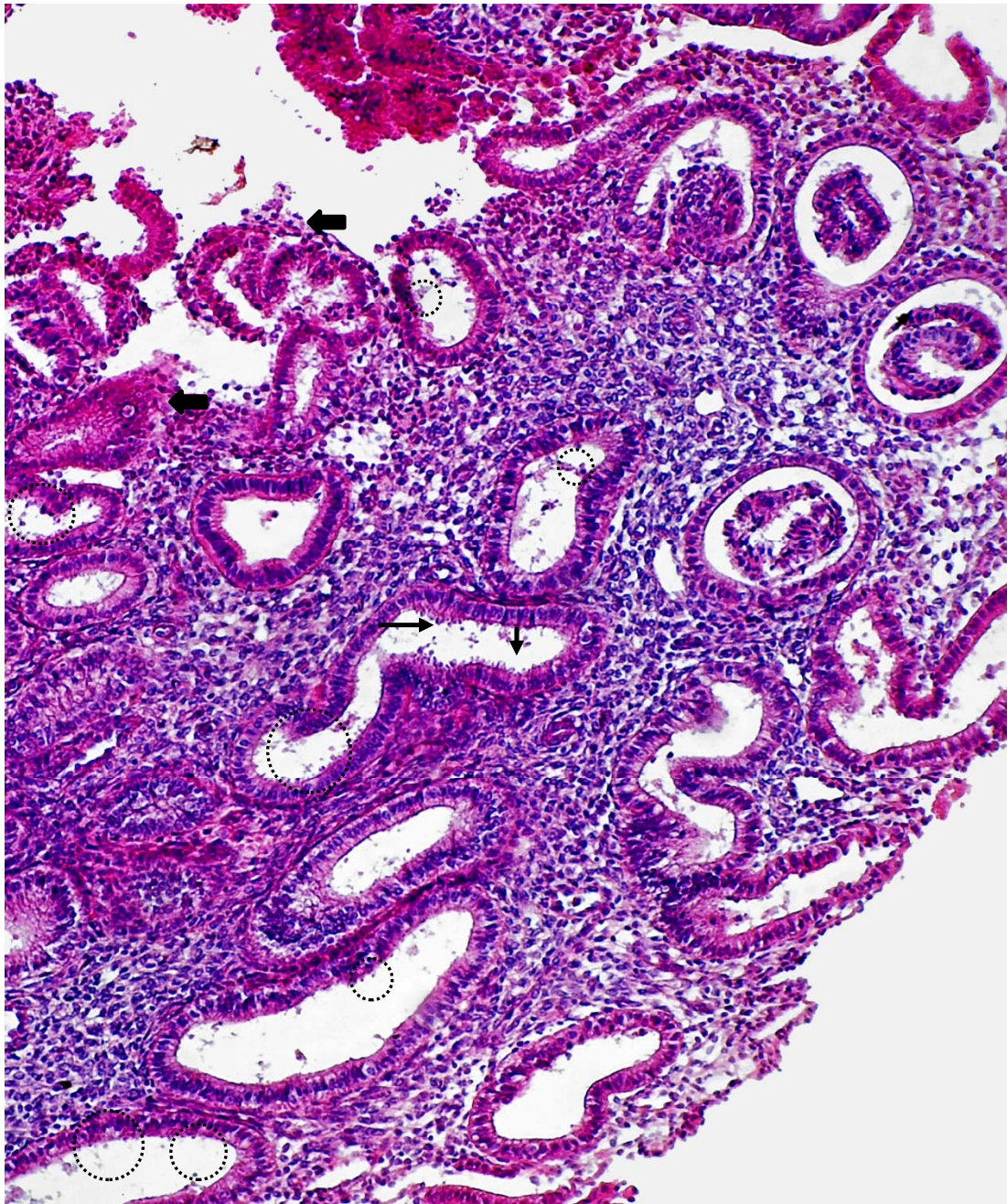


Figura 20. Tejido endometrial teñido con HE 10X. En la imagen observamos epitelio denudado localizado en algunas áreas del revestimiento endometrial (◄). Observamos también, la presencia de bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (○) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (◄) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.*



Figura 21. Tejido endometrial teñido con HE 40X. En la imagen observamos áreas con presencia células linfocitarias presentes en el intersticio del epitelio de revestimiento, fenómeno denominado infiltrado intra-epitelial (⇐). Observamos también, la presencia de bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (○) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (↗) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.*

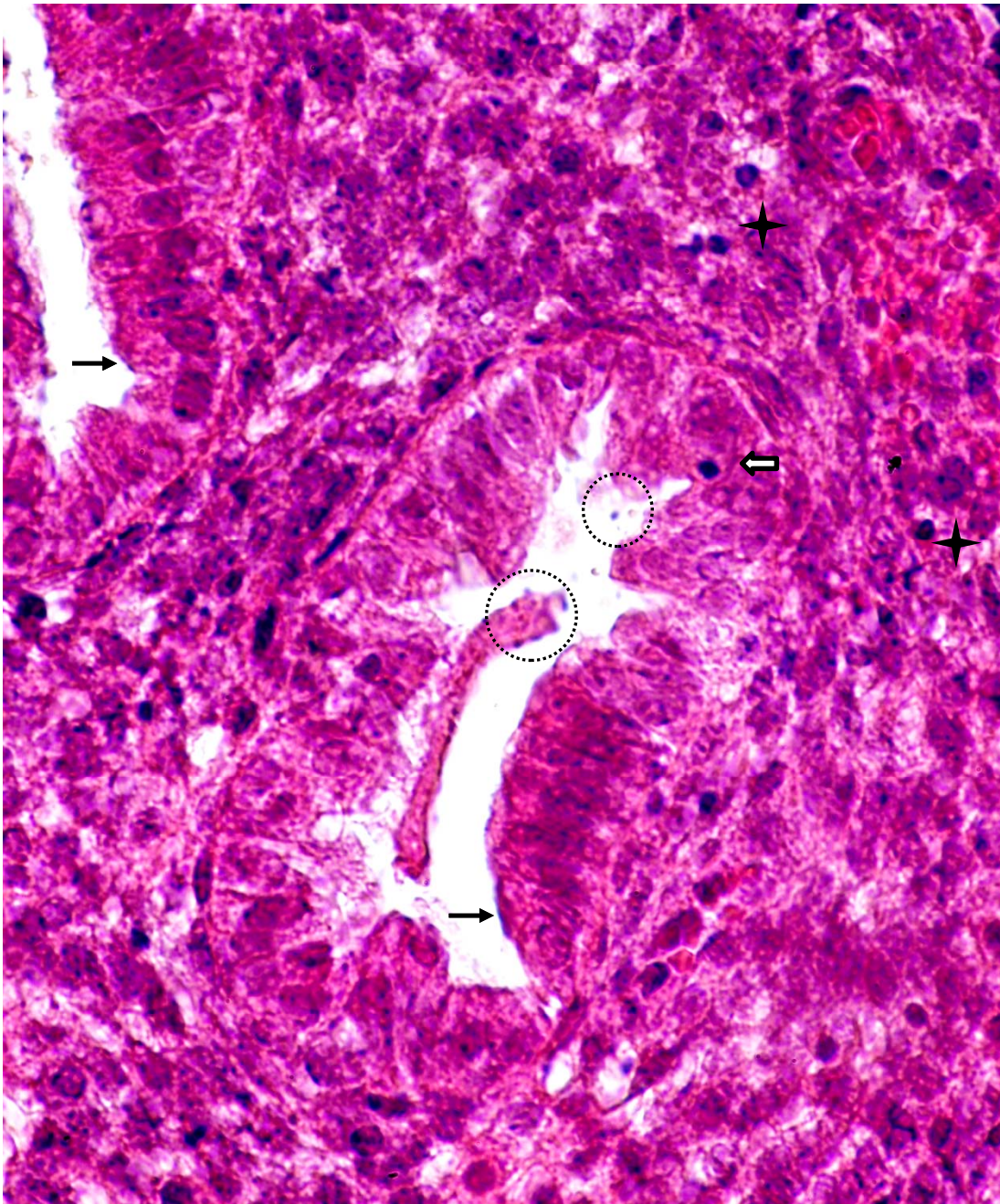


Figura 22. Tejido endometrial teñido con HE 40X. En la imagen observamos áreas con presencia de infiltrado intra-epitelial de linfocitos (➡), en el intersticio del estroma endometrial se existen áreas con infiltrado de células inflamatorias de tipo linfocitos y plasmocitos (★) Observamos también, la presencia de bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (○) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o coccobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (⚡) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.*



Figura 23. Tejido endometrial teñido con HE 40X. A mayor aumento observamos en la imagen células linfocitarias entre las células del epitelio de revestimiento endometrial (↔). Observamos también, la presencia de bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (⊙) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (↗) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.*

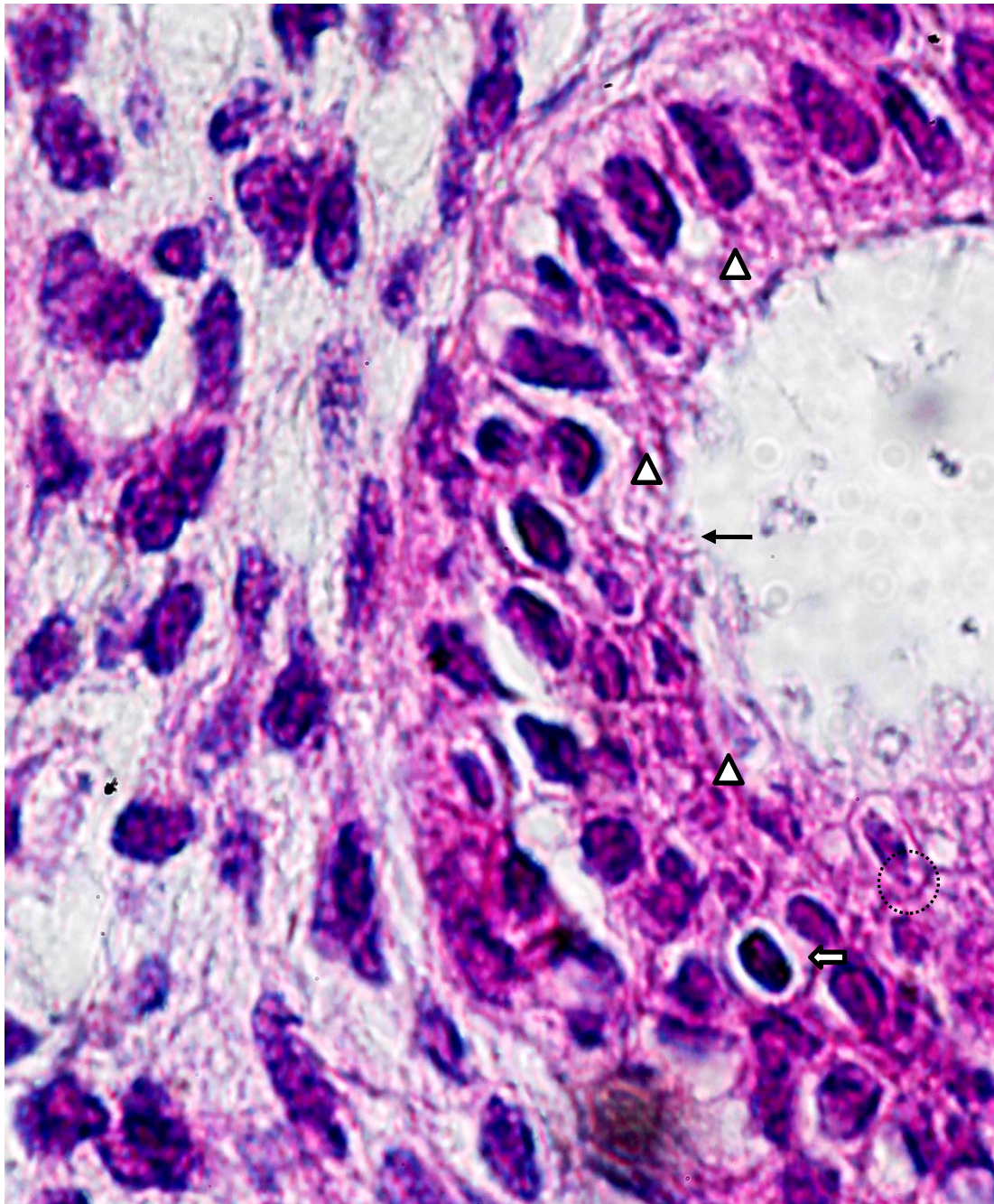


Figura 24. Tejido endometrial teñido con HE 100X. Microfotografía en la que se observa la presencia de edema intra-epitelial, el cual se presenta como restos de material acuoso en los espacios intercelulares de la capa del epitelio de revestimiento (Δ), se observa además, la presencia de infiltrado de células linfocíticas en el espacio intra-epitelial (\longleftrightarrow). Como ha sido una constante, se presenta en la imagen, bacterias con morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (\odot) y bacterias de morfología compatibles con el genero *Ureaplasma spp* (\blacktriangleright).

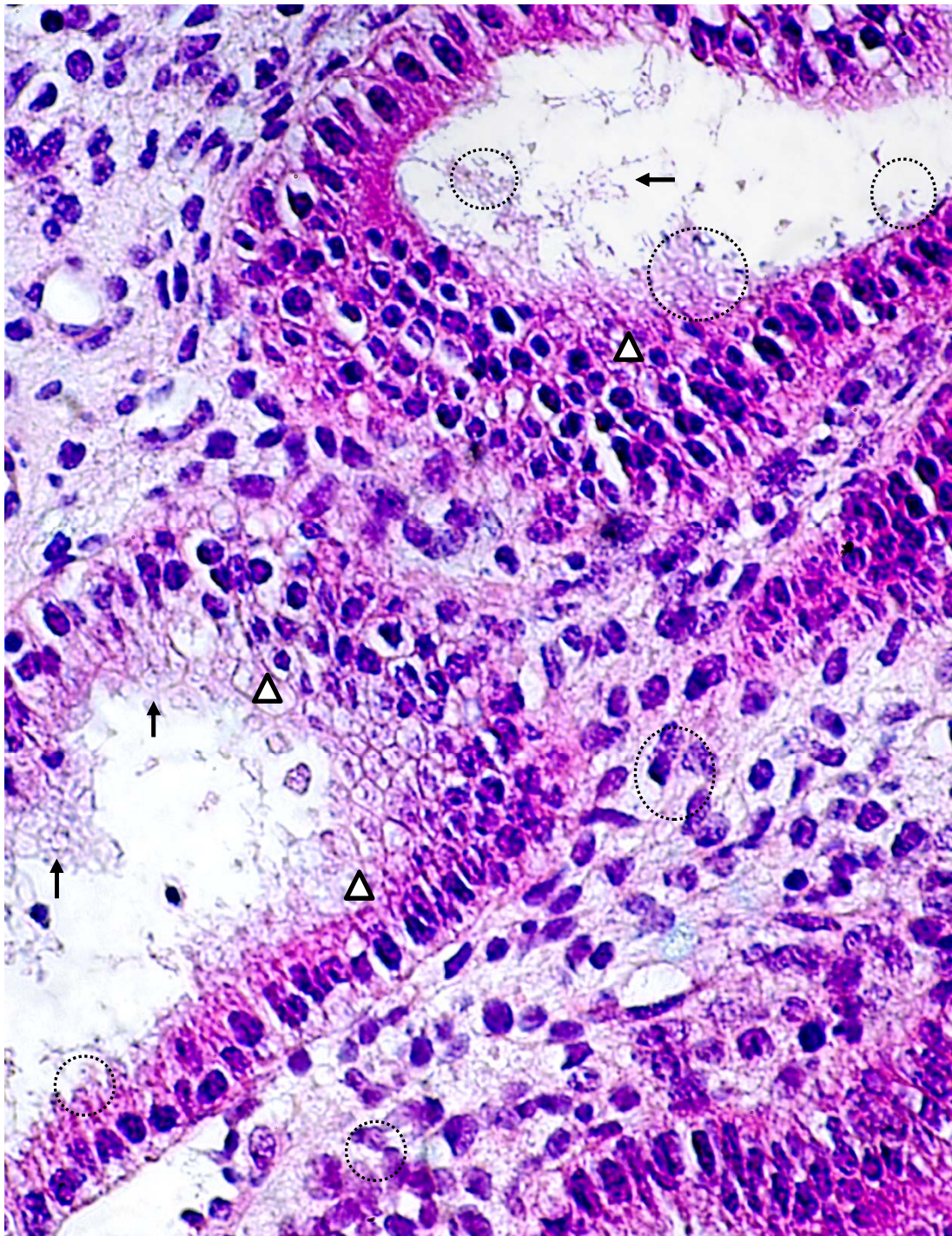


Figura 25. Tejido endometrial teñido con HE 20X. En la imagen observamos la presencia de restos de material acuoso en los espacios intercelulares de la capa del epitelio de revestimiento, lo que corresponde a edema intra-epitelial (Δ). Observamos también, la presencia de bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (\odot) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (\blacktriangledown) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.*

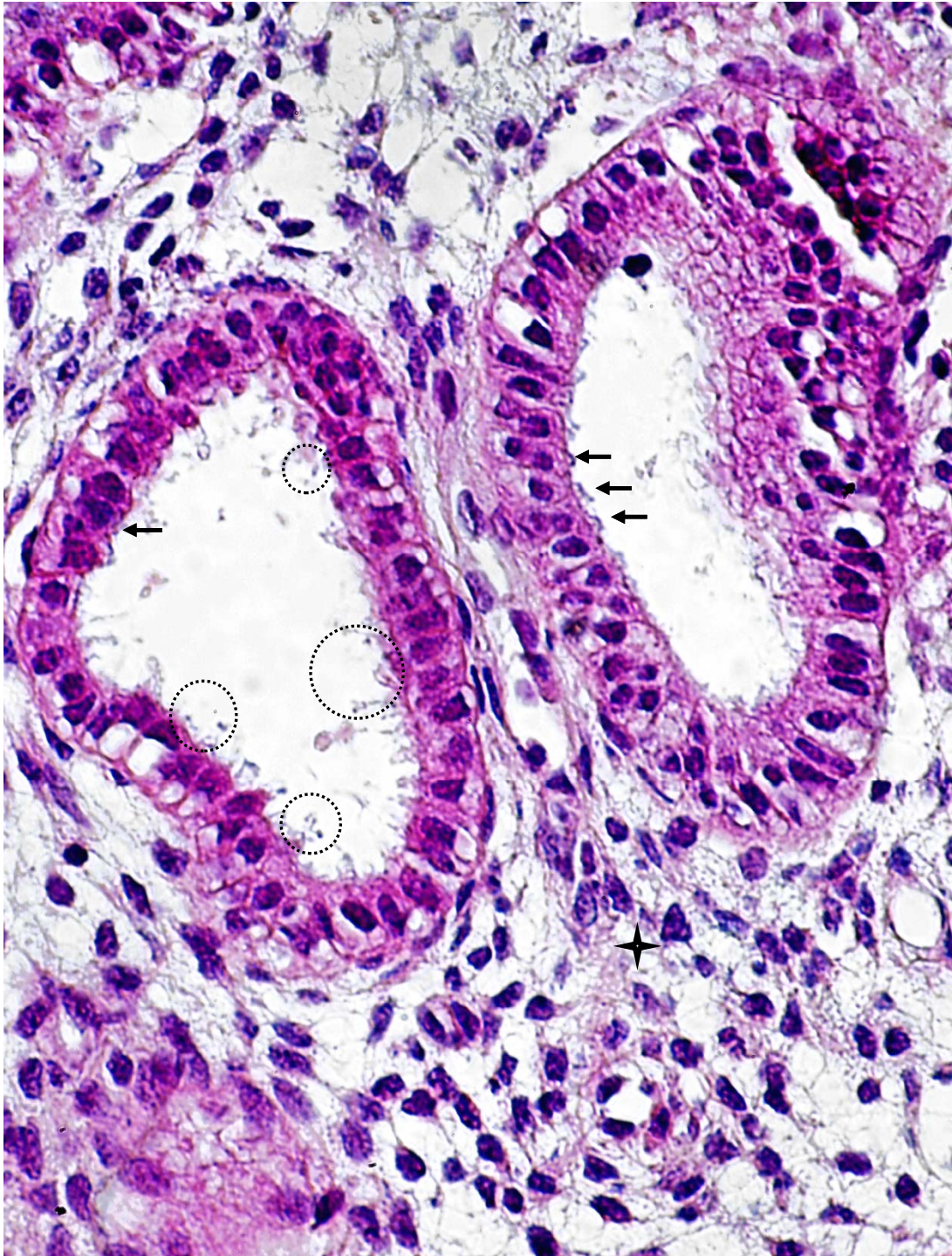


Figura 26. Tejido endometrial teñido con HE 20X. Observamos en la imagen que en el intersticio del estroma endometrial se existen áreas con infiltrado de células inflamatorias de tipo linfocitos y plasmocitos (★) Observamos también, la presencia de bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (⊙) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (↖) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.*

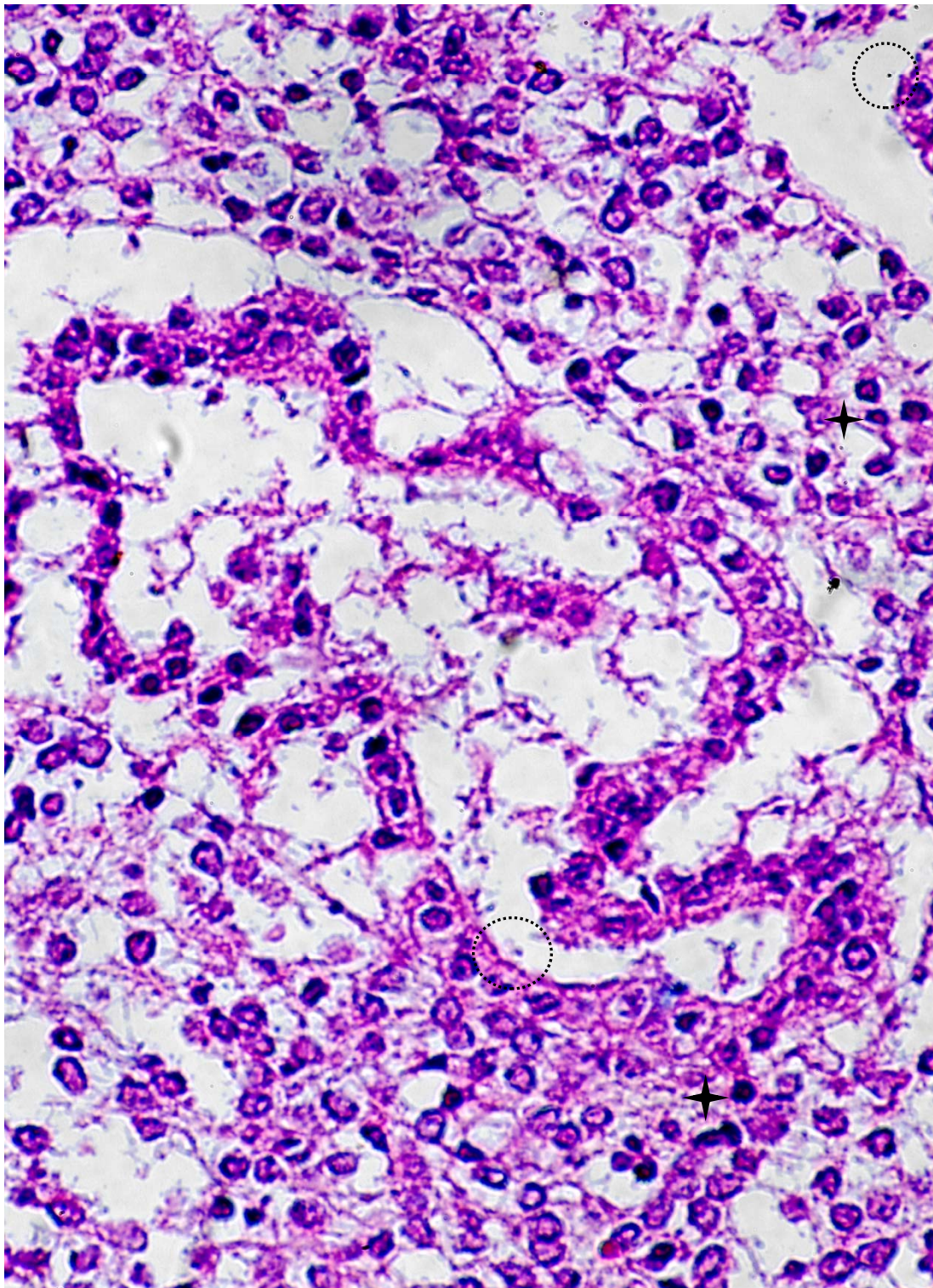


Figura 27. Tejido endometrial teñido con HE 20X. En la imagen observamos la presencia de infiltrado inflamatorio localizado en el intersticio del estroma endometrial, predominantemente hay presencia de células plasmáticas (★), también se observan bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (⊙).

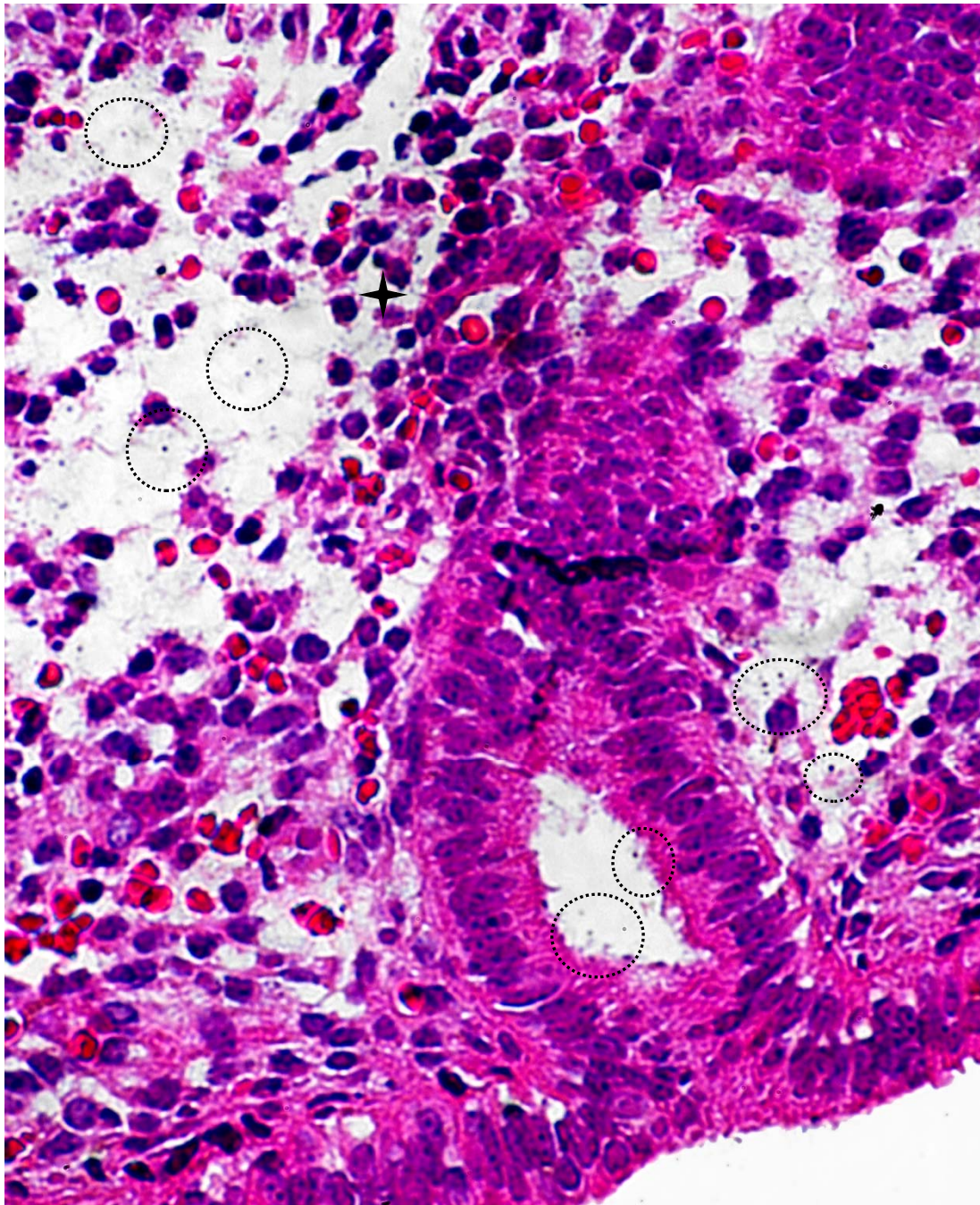


Figura 28. Tejido endometrial teñido con HE 40X. Observan bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (○). Observamos además la presencia de infiltrado inflamatorio localizado en el intersticio del estroma endometrial, predominantemente hay presencia de células plasmáticas (★).

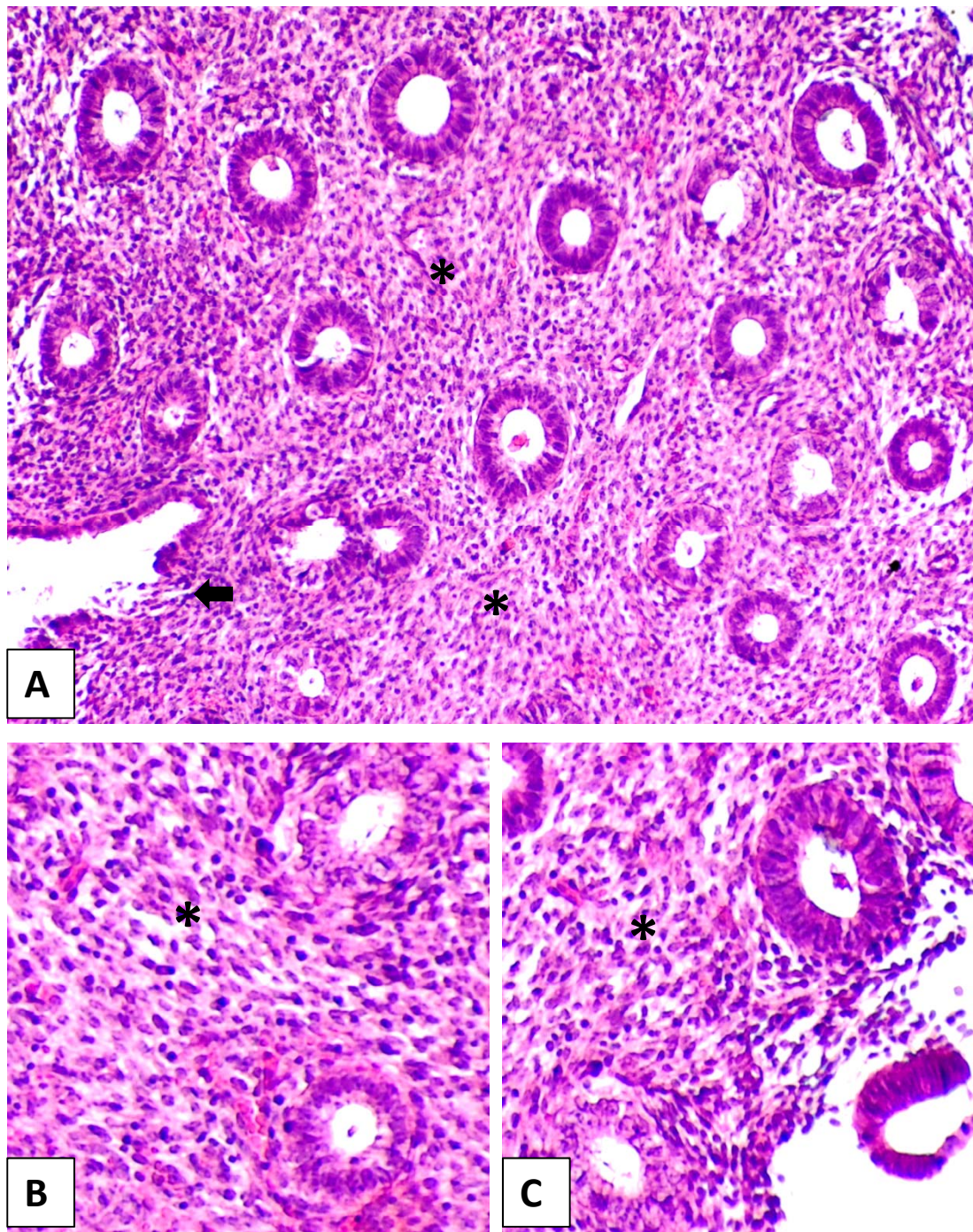


Figura 29. Tejido endometrial teñido con HE. A (20X), B y C (40X). En la imagen se presenta un conjunto de microfotografías en las que se observa la presencia de estroma endometrial compactado, caracterizado por un aumento en la celularidad y aumento en la cantidad de componentes fibrosos (*). Además de esta alteración, se puede observar la presencia de la pérdida de la continuidad epitelial en algunas zonas de la capa de células de revestimiento (←).

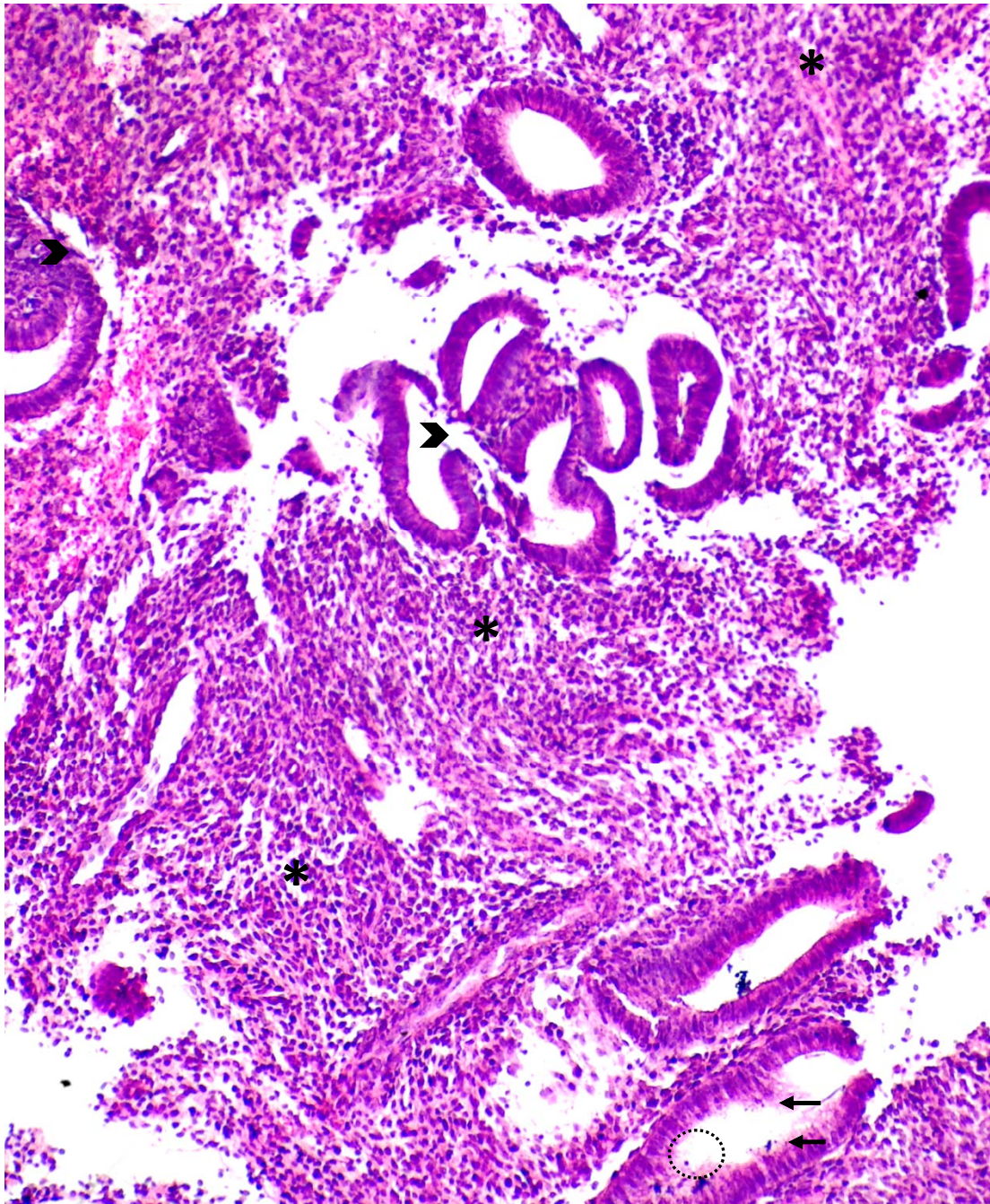


Figura 30. Tejido endometrial teñido con HE 10X. Se presenta una microfotografía en la que se logra observar la compactación en los componentes del estroma endometrial (*), y en algunas zonas de la capa de recubrimiento epitelial se presentan áreas con desprendimiento de las células epiteliales (➤). Observan bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (⊙) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (↖) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.* .

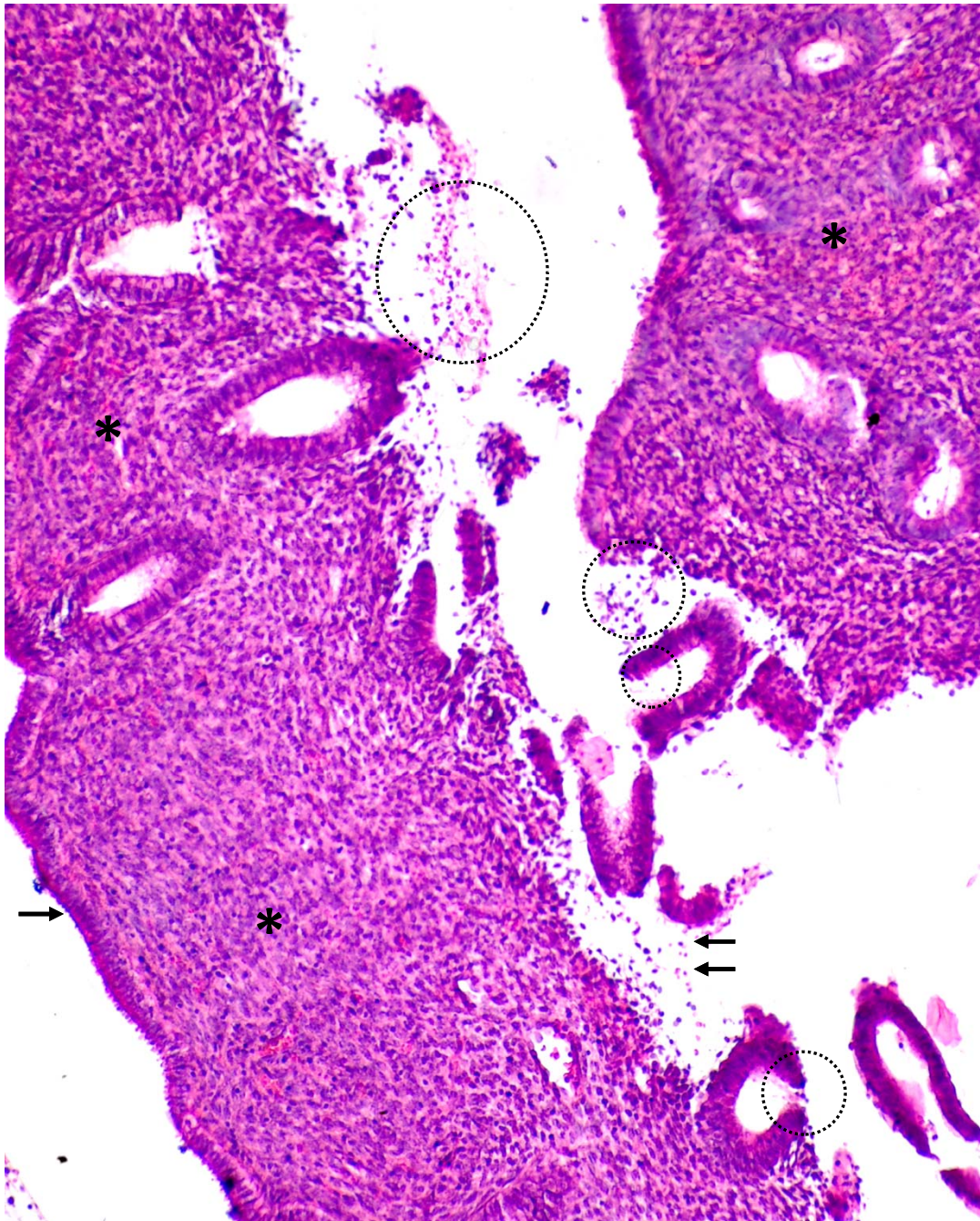


Figura 31. Tejido endometrial teñido con HE 10X. Se presenta una microfotografía en la que se logra observar la compactación en los componentes del estroma endometrial (*). Observan bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (○) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (↖) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del género *Ureaplasma spp.* .

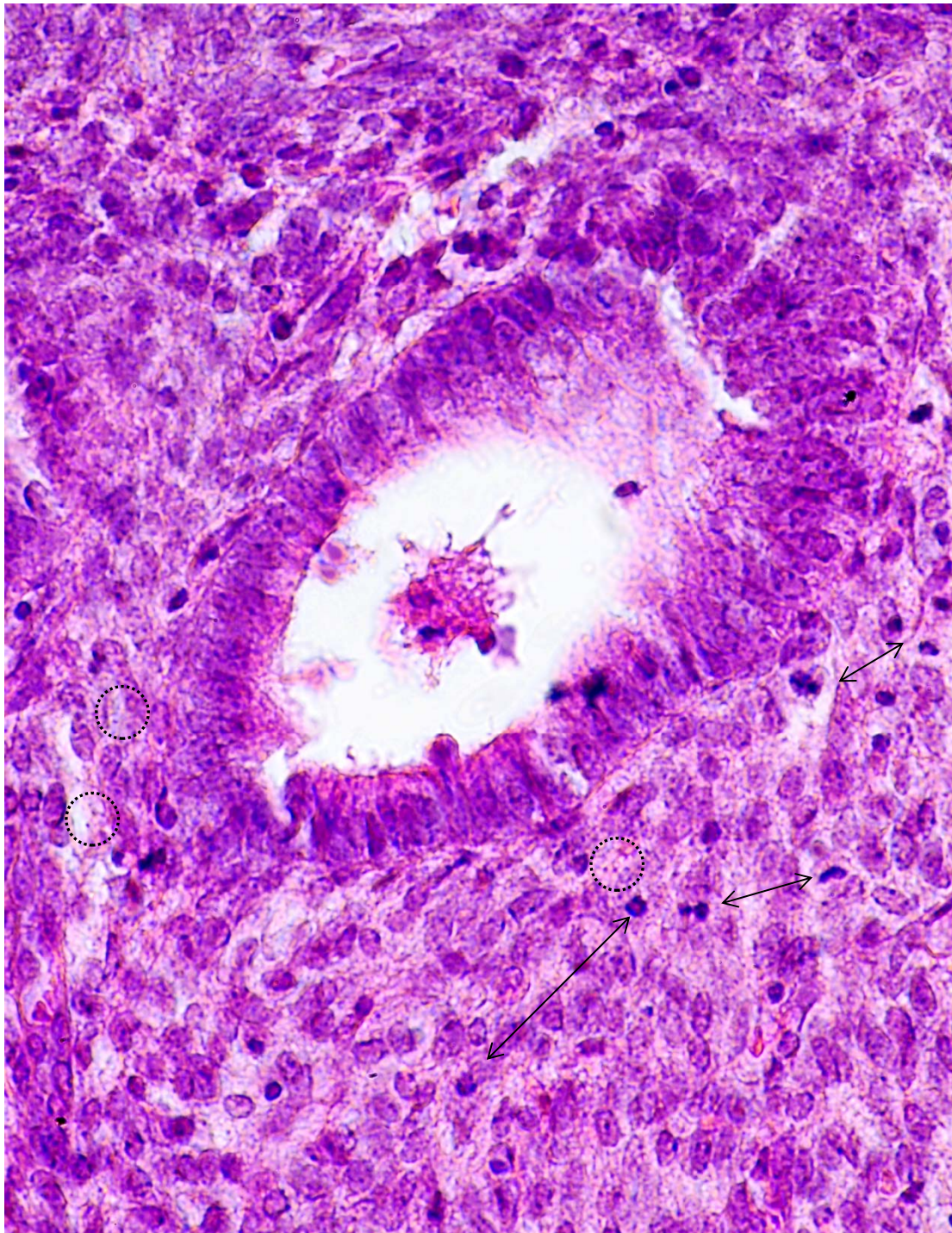


Figura 32. Tejido endometrial teñido con HE 40X. En la microfotografía podemos observar la presencia de infiltrado inflamatorio, predominantemente polimorfonucleares (\longleftrightarrow). Además es posible observar bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (\odot).

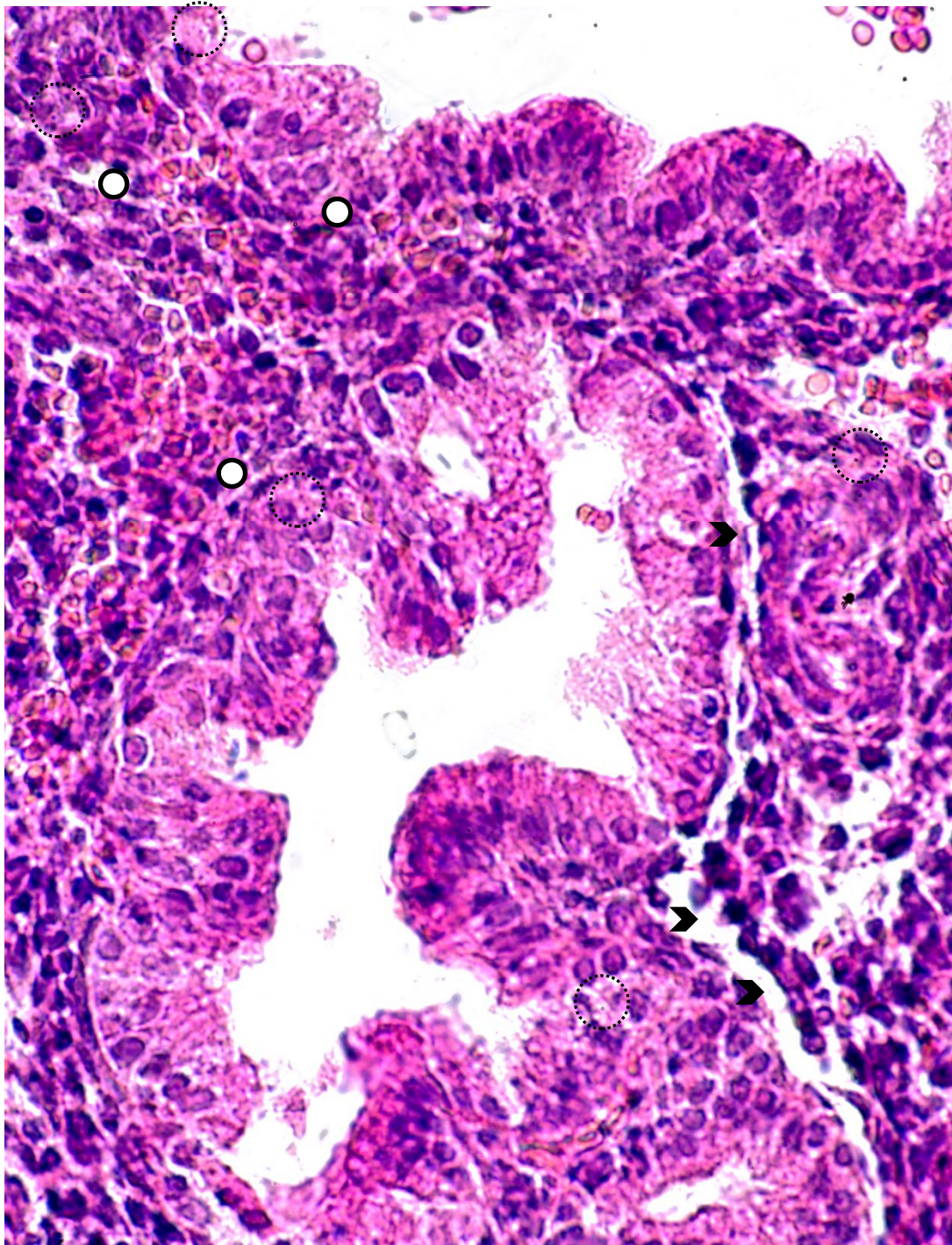


Figura 33. Tejido endometrial teñido con HE 20X. Observamos en la imagen una microfotografía que muestra la presencia de eritrocitos intra-estromales, caracterizados por presentar morfología alterada y con bacterias adheridas a la superficie (○), se presentan además, zonas con desprendimiento de la capa de células de recubrimiento epitelial (➤). Además es posible observar bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (⊙).

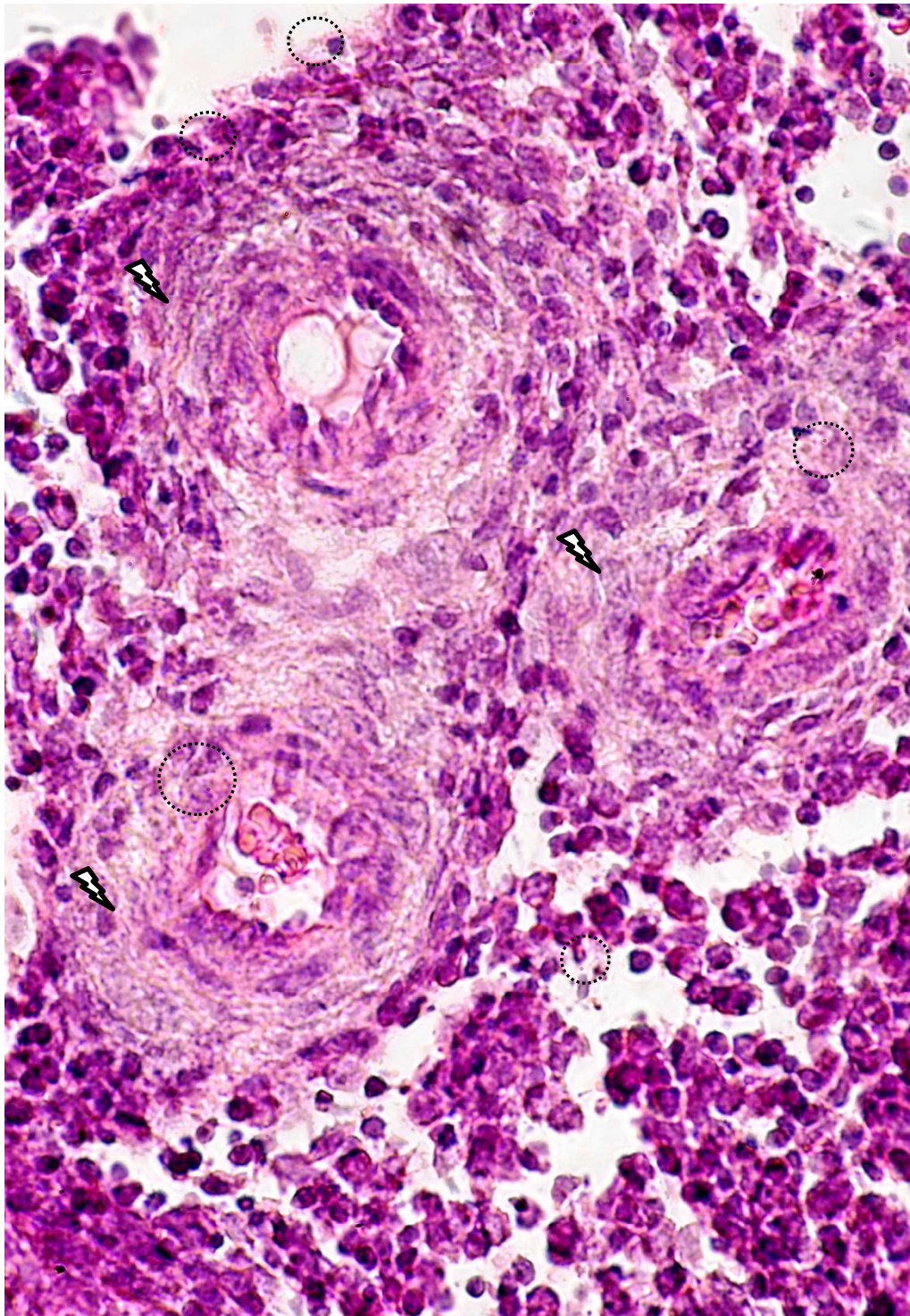


Figura 34. Tejido endometrial teñido con HE 40X. Microfotografía en la que se evidencia la presencia de engrosamiento de las células endoteliales (↗). Es posible observar además, bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (⊙).

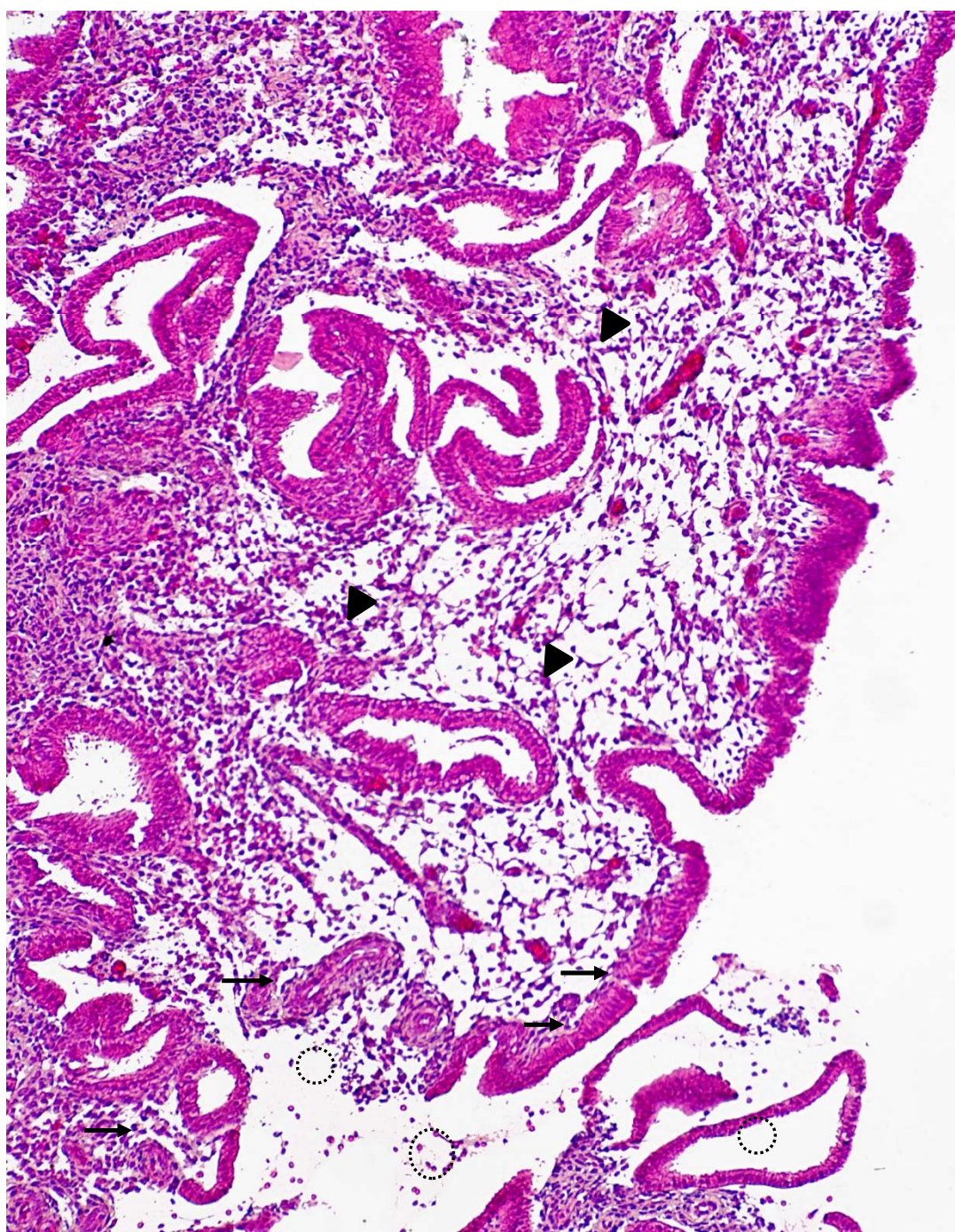


Figura 35. Tejido endometrial teñido con HE 10X. Podemos observar en la imagen, una microfotografía en la que se observa la presencia de amplias zonas de tejido edematoso las cuales se extienden por todo el intersticio endometrial (►). Observan bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (⊙) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (•) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.*

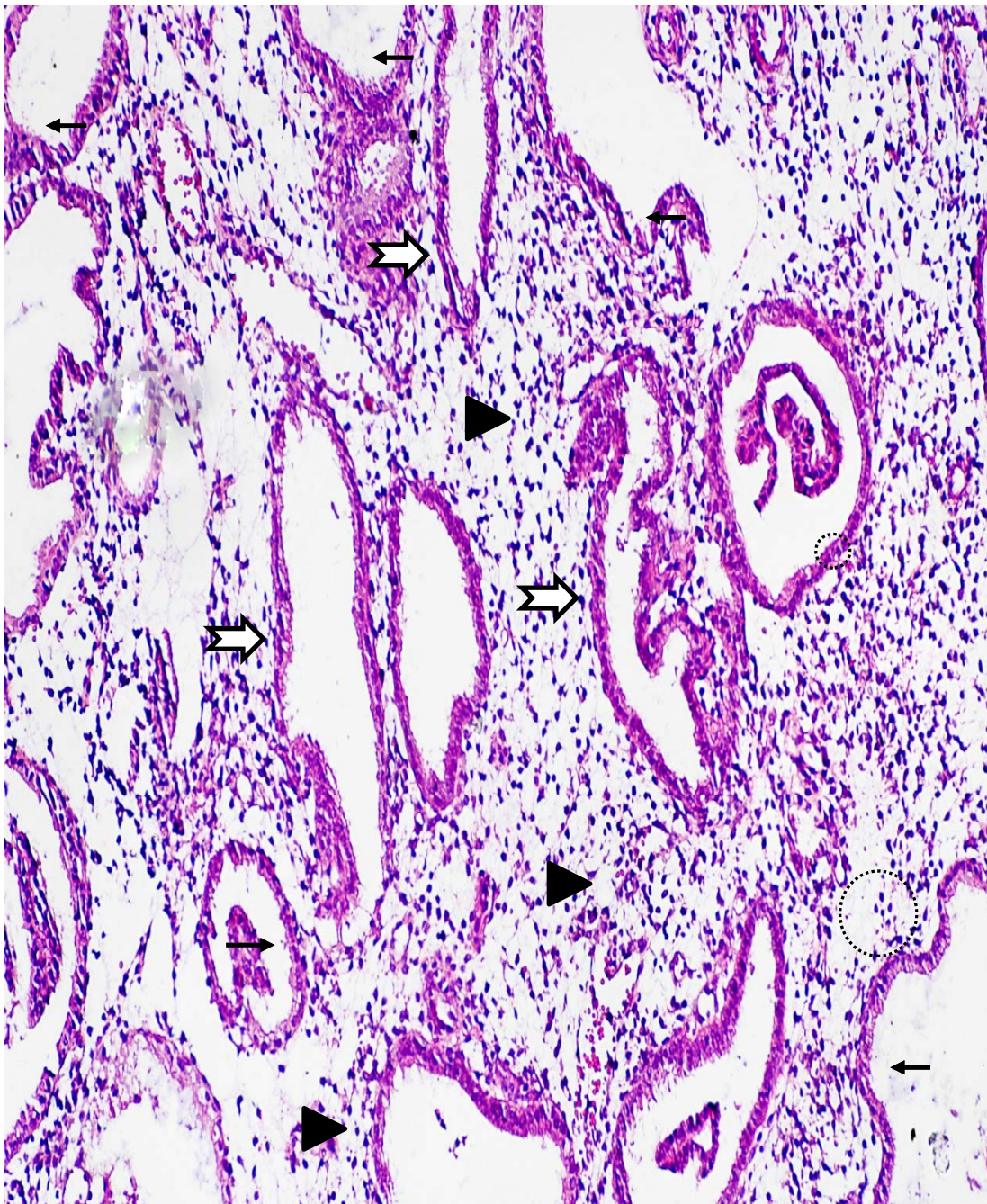


Figura 36. Tejido endometrial teñido con HE 10X. Imagen en la que se observa la presencia de tejido estromal edematoso (►) y epitelio de revestimiento endometrial con células morfológicamente alteradas (⇨). Como ha sido una constante se observan bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (○) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (↙) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del género *Ureaplasma spp.* .

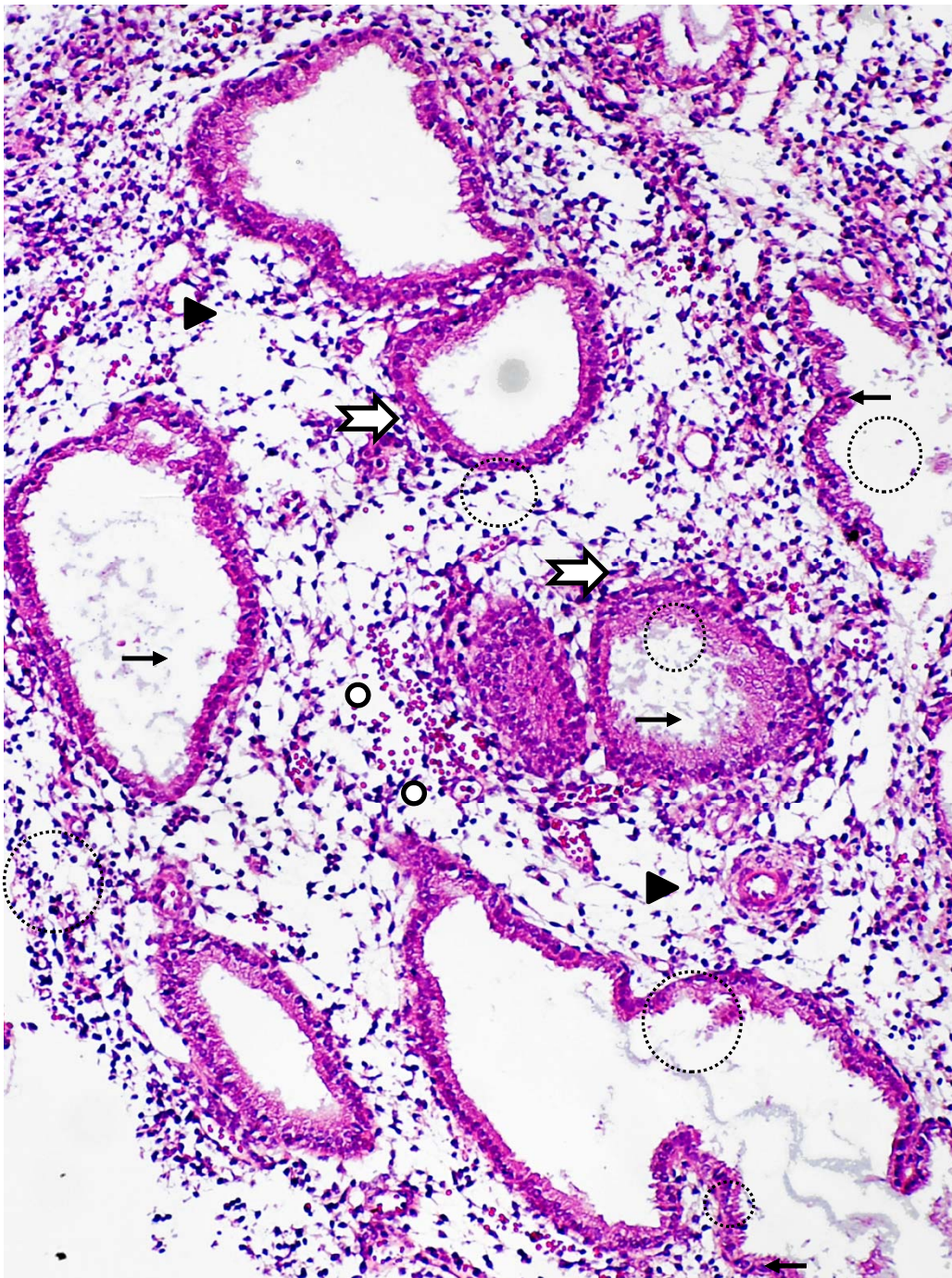


Figura 37. Tejido endometrial teñido con HE 10X. Se observa la presencia de edema intersticial en amplias zonas del tejido conectivo endometrial (►), así como la presencia de eritrocitos localizados entre los espacios estromales (○), respecto al epitelio endometrial, característicamente se observa la morfología atípica de las células de recubrimiento (↗). Como ha sido una constante se observan bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (⊙) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (↖) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.* .

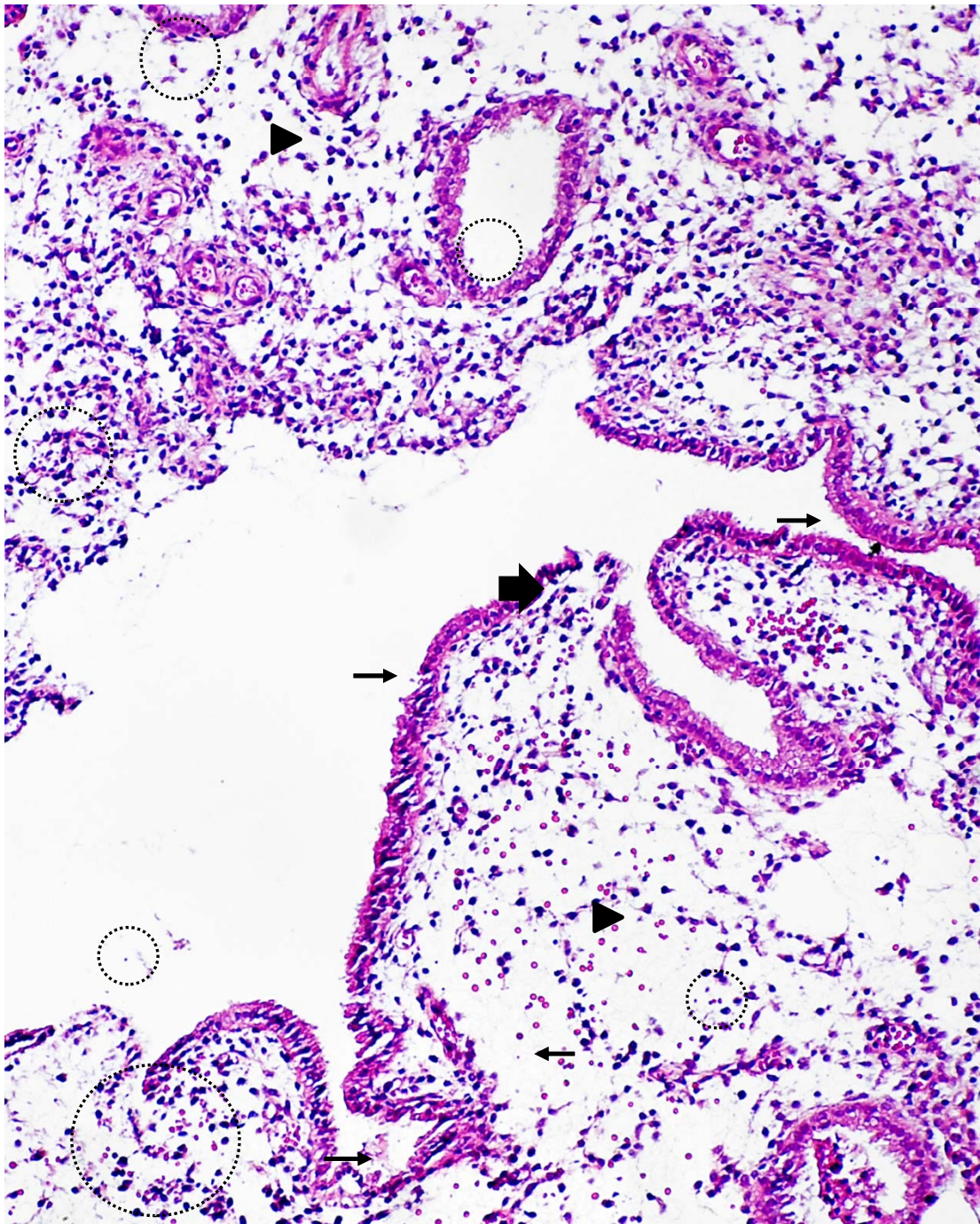


Figura 38. Tejido endometrial teñido con HE 10X. Se observa la presencia de edema intersticial en amplias zonas del tejido conectivo endometrial (►), así como la pérdida de la continuidad del epitelio endometrial en algunas zonas (➡). Se observan bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (○) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (◄) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.* .

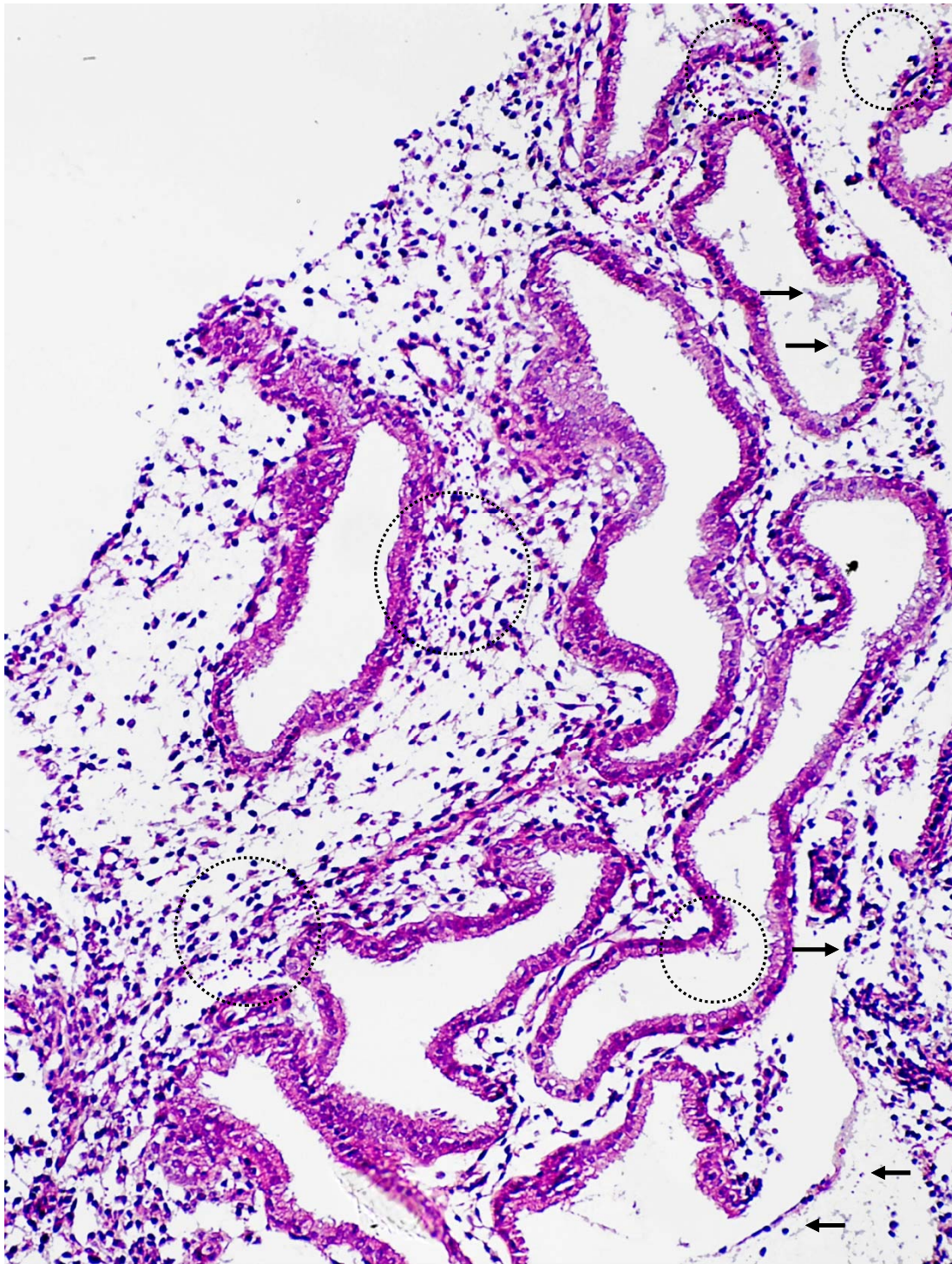


Figura 39. Tejido endometrial teñido con HE 10X. Se observan bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (○) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (◄) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.* .

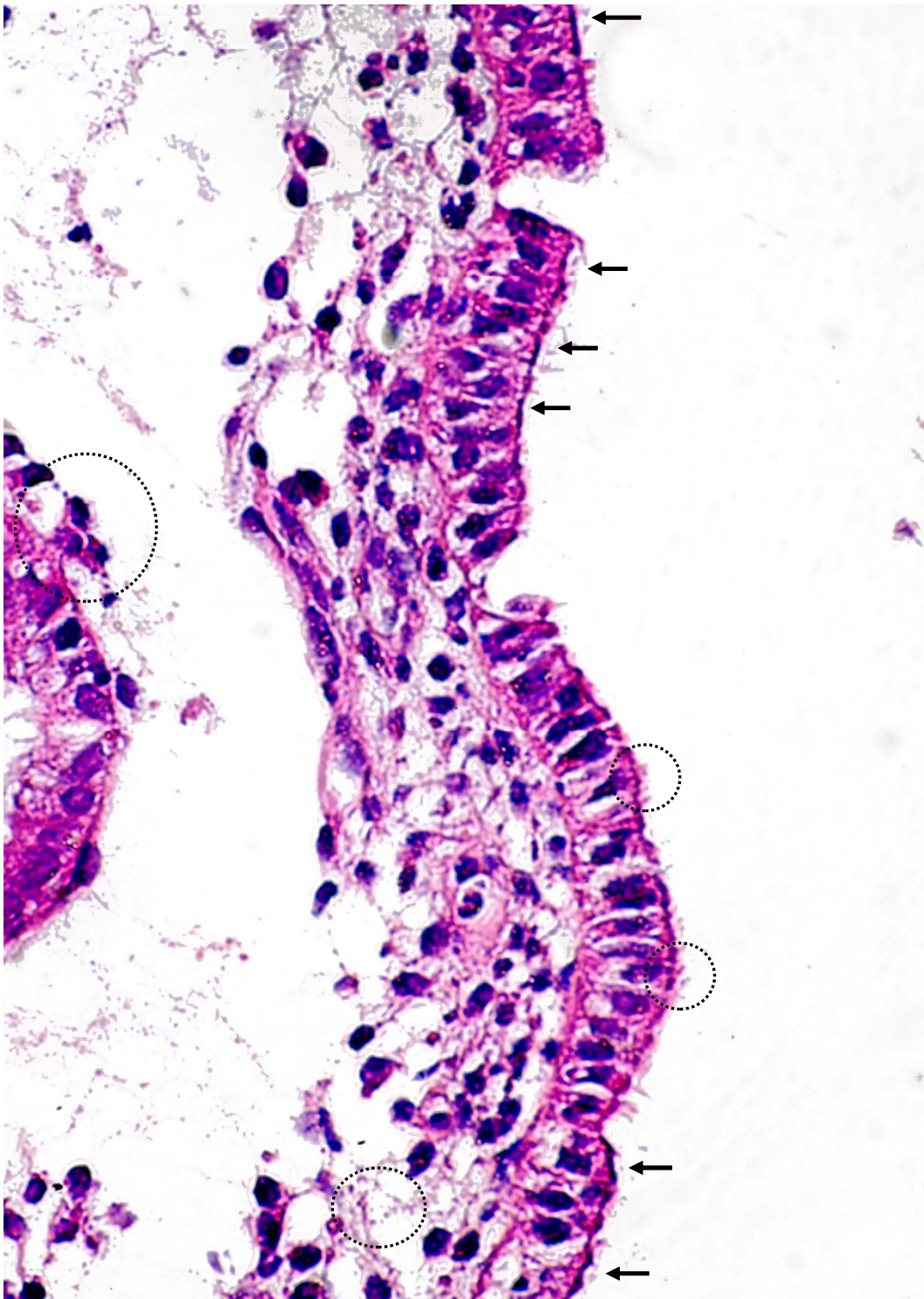


Figura 40. Tejido endometrial teñido con HE 20X. Se observan bacterias esféricas con un diámetro de 0,2 a 0,5 micrómetros aproximadamente, de contorno regular y con halo periplasmático; morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* (⊙) observamos también, bacterias de forma esférica, bacilar o cocobacilar, con diámetro aproximado de 0,2 micrómetros (↖) por su forma y dimensiones son compatibles con bacterias del genero *Ureaplasma spp.*

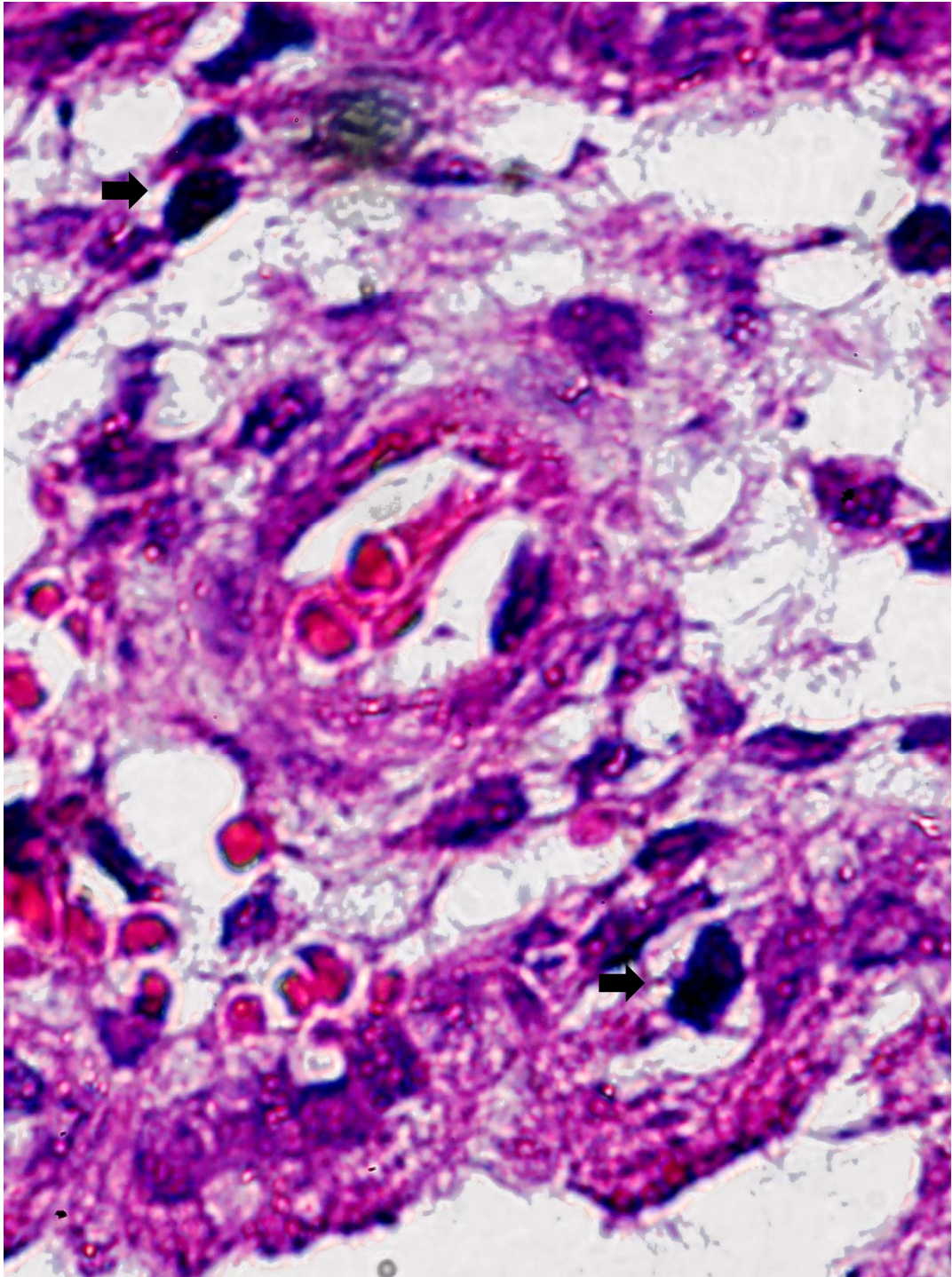


Figura 41. Tejido endometrial teñido con HE 10X. Microfotografía en la que se observa la presencia de infiltrado intersticial de células inflamatorias del tipo plasmocíticas (➡).

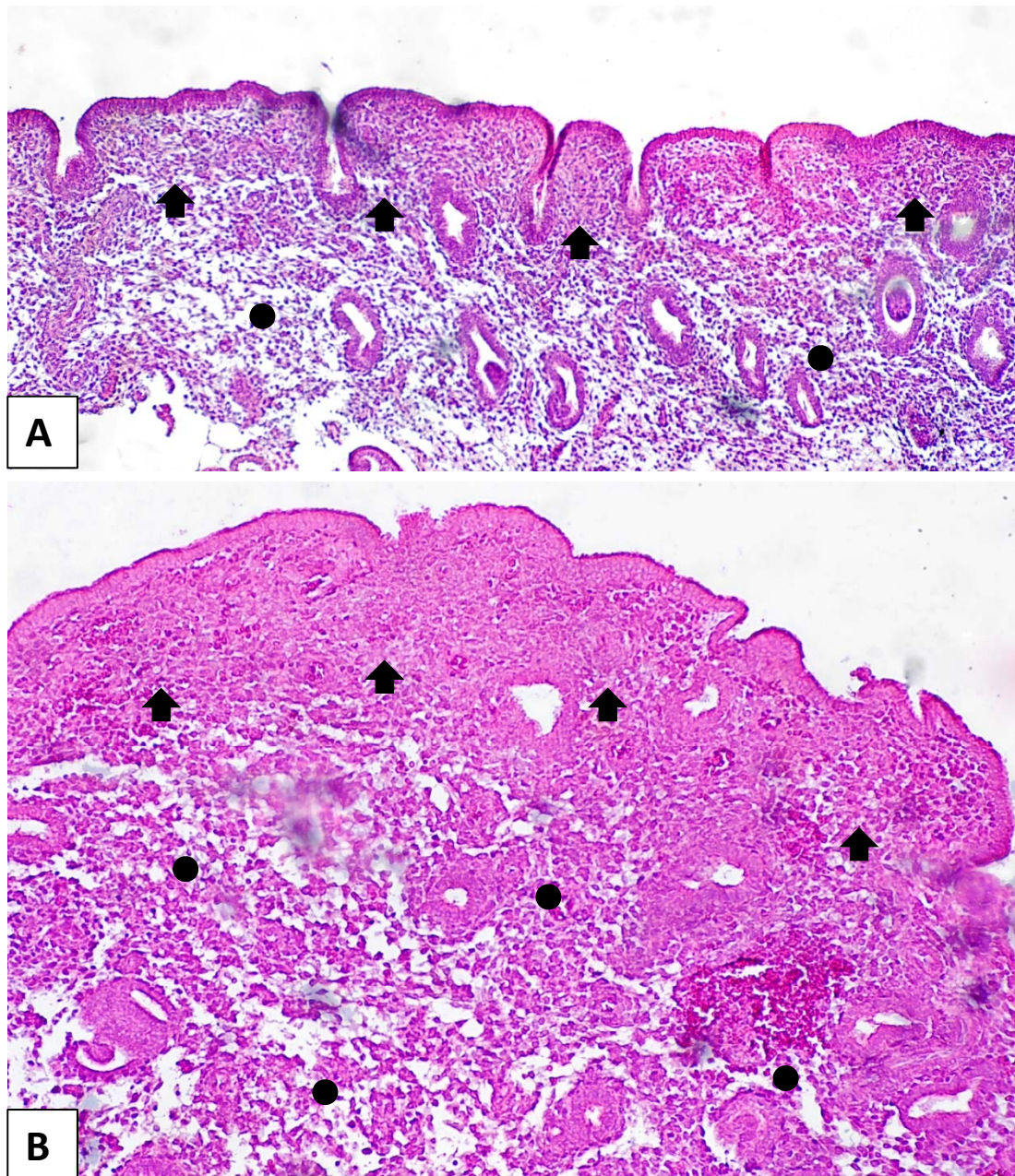


Figura 42 A y B. Tejido endometrial teñido con HE 10X. Imagen en la que se evidencia la presencia de hiper celularidad y compactación estromal (●), localizada principalmente hacia la región basal del epitelio endometrial (↑) .

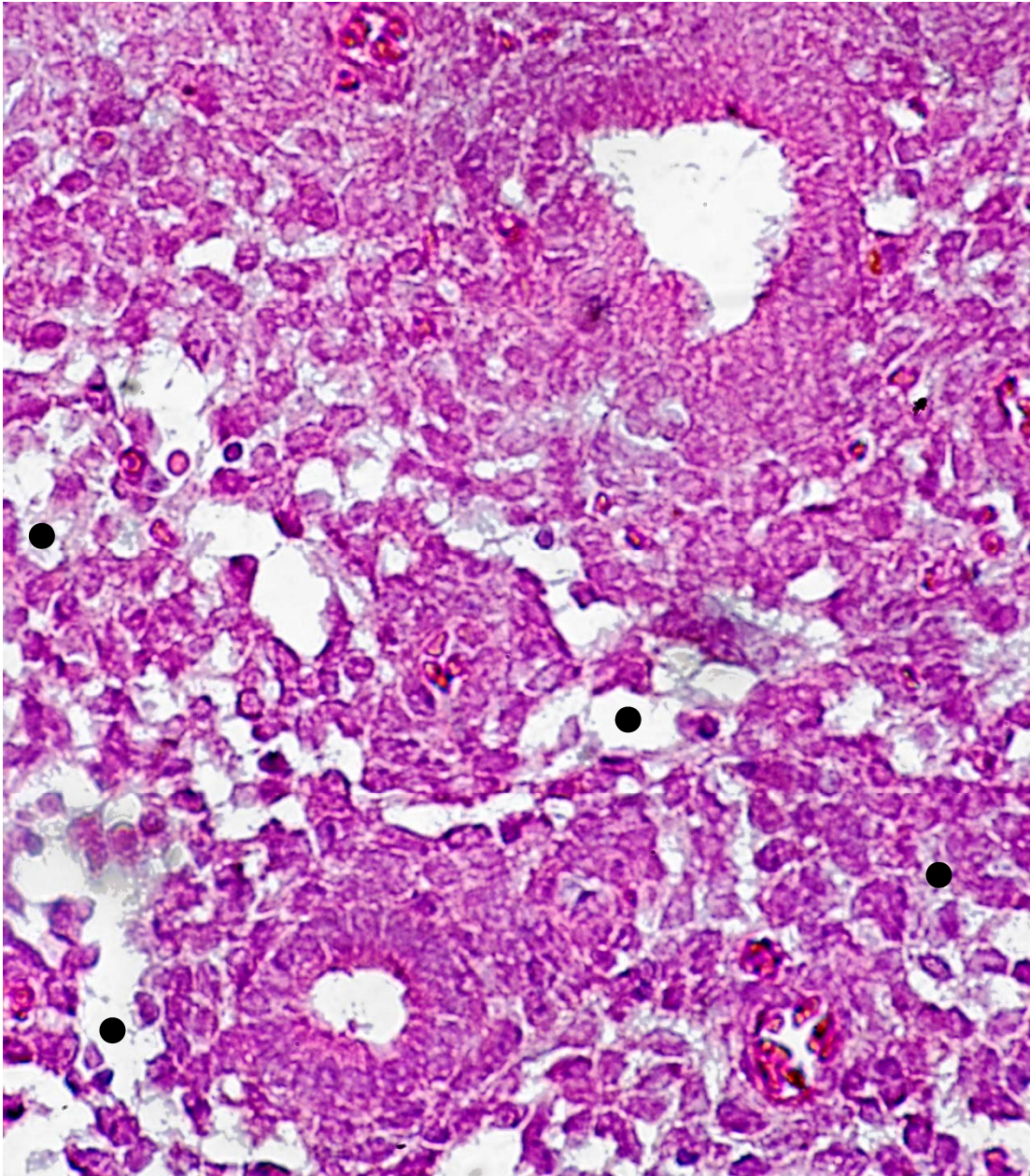


Figura 43. Tejido endometrial teñido con HE 40X. Imagen en la que se evidencia la presencia de hiper celularidad y compactación estromal (●).

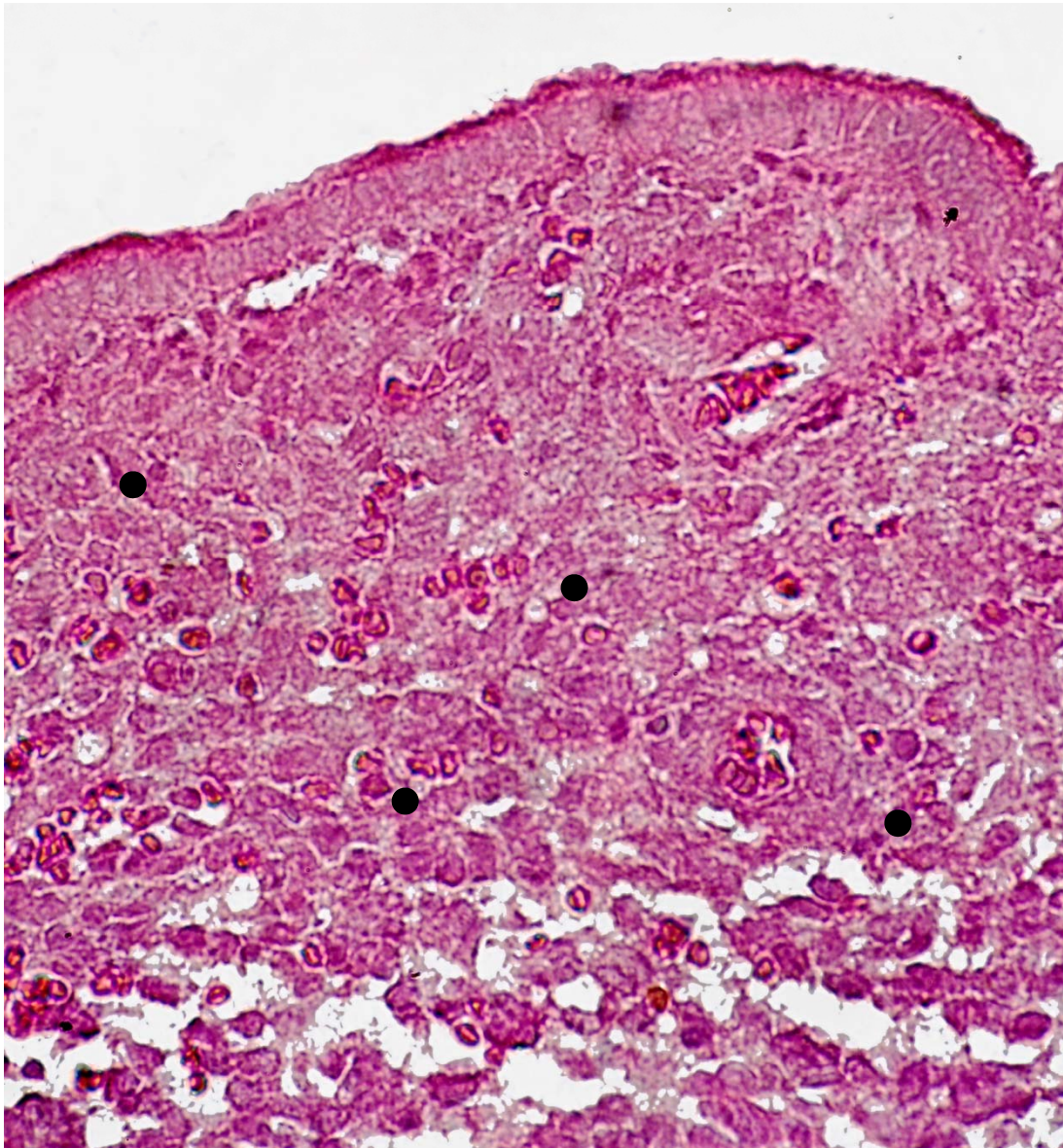


Figura 44. Tejido endometrial teñido con HE 10X. Imagen en la que se evidencia la presencia de hiper celularidad y compactación estromal (●) y una marcada disminución del número de glándulas endometriales.

5. DISCUSIÓN

En la evaluación del factor femenino de la infertilidad conyugal, el estudio de la biopsia de endometrio, no figura dentro de los protocolos convencionales. La revisión de la cavidad uterina y su superficie de revestimiento se realizan mediante la histeroscopia, en la que los datos que se obtienen son de índole macroscópica y, por lo tanto, insuficientes para revelar la patología tisular intrínseca del endometrio. Este tejido glandular es referido en gran cantidad de publicaciones como asiento frecuente de infecciones ascendentes desde la cavidad vaginal, pero su traducción a nivel clínico es poco sospechada ante la vaguedad e inespecificidad de la sintomatología. Esto es aún más marcado cuando se trata de gérmenes inespecíficos, como lo son las *Chlamydias* y los *Micoplasmas*, que por ser de baja agresividad pueden permanecer como infecciones ocultas durante tiempos prolongados.

Las infecciones en el tracto genitourinario ocasionadas por *Chlamydia trachomatis* (Ct) y *Ureaplasma urealyticum* (Uu) aun en nuestros días siguen siendo de las entidades clínicas que representan serios problemas de salud pública, a pesar de los grandes avances en las tecnologías diagnósticas y en tratamientos médicos. La infección por *Chlamydia trachomatis* es actualmente la enfermedad bacteriana sexualmente transmitida más común en los países industrializados. En las personas sexualmente activas menores de 25 años de edad, se ha descrito que la prevalencia está por encima del 20%, y las expresiones clínicas más comunes son la uretritis/epididimitis en hombres, y cervicitis, endometritis, y salpingitis en mujeres.

La infección por *Chlamydia trachomatis* se le considera clásicamente de transmisión sexual; desde la década de los sesenta, los cambios en el estilo de vida evidenciaron que este tipo de infecciones son ocasionadas por contacto sexual (Oriel JD *et al.*, 1972); rápidamente, y solo una década después de esta aseveración, este tipo de infecciones fue considerada como la infección bacteriana más frecuentemente transmitida por contacto sexual (Schachter J, 1985; Woolfitt JM y Watt L, 1977). Actualmente se estima que las infecciones por esta bacteria tienen una incidencia anual de 92 millones de casos en todo el mundo, cifra que, sin embargo, se considera subestimada (Organización Mundial de la Salud, 2001).

Con el desarrollo de nuevas tecnologías de diagnóstico, se han ido ampliando y clarificado los mecanismos de contagio por medio de los cuales *Chlamydia trachomatis* puede ocasionar infecciones en una gran variedad de órganos y sistemas de la economía del cuerpo humano. En los últimos años, diversos grupos de investigadores han aportado

evidencias de la asociación de las infecciones por esta bacteria con patologías diferentes a las derivadas del contagio sexual (Dlugosz A *et al.*, 2010; Gallegos G, 2005).

A pesar de que las infecciones por *Chlamydia trachomatis* a menudo se presentan asintomáticas o clínicamente insignificantes, las secuelas de sus complicaciones son de importancia porque constituyen la causa más común de la infertilidad adquirida en humanos (Westrom LV, 1990). Existe evidencia de que las mujeres con una infección por *Chlamydia trachomatis* previa son 4 veces más propensas a desarrollar obstrucción en las trompas de Falopio que las mujeres que no han tenido la infección.

Además del daño en la mucosa tubaria y el músculo liso, la infección por *Chlamydia trachomatis* causa adhesión y obstrucción de la salpinge, y, como resultado, perjudica la función de las fimbrias, lo que lleva a la infertilidad (Elquils O *et al.*, 2006; Nalbanski B, 1999).

La infertilidad sin explicación, el aborto recurrente, el sangrado uterino disfuncional, el dolor pélvico, el síndrome premenstrual, el parto prematuro, la insuficiencia placentaria y la preeclampsia son ejemplos comunes de problemas obstétricos y ginecólogos que frecuentemente carecen de una explicación adecuada. La vaginosis bacteriana, una enfermedad no inflamatoria, está asociada con el parto prematuro, pero los antibióticos que se administran por vía tópica proveen menos profilaxis que los administrados oralmente. Esto podría indicar que la vaginosis bacteriana puede ser un marcador de presencia bacteriana en el tracto genital, sin embargo, algunas patologías dependen de microorganismos que ascienden, quedando fuera de alcance del antibiótico tópico (Viniker DA, 1999). Se ha considerado la hipótesis de que algunos microorganismos, posiblemente aquellos que se asocian con vaginosis bacteriana, subrepticamente habitan la cavidad uterina, donde son los culpables de algunos enigmas ginecológicos y obstétricos comunes.

Por otro lado, las infecciones por bacterias de la familia Mycoplasmataceae están ampliamente asociadas a trastornos reproductivos, andrológicos y ginecoobstétricos (Smith DGE *et al.*, 1994; Volgman T *et al.*, 2005; Gallegos G *et al.*, 2008; Gallegos-Avila MG *et al.*, 2009). Uno de los géneros bacterianos que pertenecen a esta familia es *Ureaplasma urealyticum*, que comúnmente es considerada como bacteria residente de la flora microbiana en el tracto genitourinario, sin embargo, bajo ciertas condiciones ambientales, se ha relacionado con patologías de esta región anatómica (Volgman T *et al.*, 2005). En los

adultos, esta bacteria se ha encontrado asociada con uretritis no gonocócica, epididimitis, urolitiasis y con problemas reproductivos e infertilidad (Yoon BH *et al.*, 1998).

La presencia de bacterias en el endometrio ha sido asociada con infertilidad; el síndrome de antifosfolípidos ha sido relacionado con el aborto involuntario; y la preeclampsia, con algunas infecciones inespecíficas causadas por bacterias, incluidas *Chlamydias*, así como también *Mycoplasmas* (Quinn PA, 1983). La preeclampsia puede ser explicada por una respuesta exagerada del huésped hacia los microorganismos intrauterinos o toxinas bacterianas. La hipótesis de que un factor común, bacteriosis endometrial, puede dar una explicación plausible para una variedad de misterios obstétricos y ginecólogos es particularmente inquietante.

En 1994, (CDC, 2000), el costo estimado de las infecciones por *Chlamydia trachomatis* no tratadas y sus complicaciones eran de 2 billones de dólares en los Estados Unidos. Howell *et al.*, en 1998, consideraron que la omisión del diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* en mujeres que se atienden por enfermedad inflamatoria pélvica provoca un costo de atención médica de 2.2 millones de dólares, por cada 500 casos.

El parto prematuro es la primera causa prevenible de la morbilidad neonatal. La evidencia muestra que las infecciones genitourinarias más comunes, que pueden ser fácilmente tratadas, causan un alto número de bebés que nacen prematuramente. Debido a sus órganos biológicamente inmaduros, estos recién nacidos necesitan cuidado intensivo neonatal, que lleva a costos excesivos en un corto plazo (aproximadamente \$3000 dólares al día, en la Universidad de Colorado). A largo plazo, esos niños necesitan seguimiento para algunas enfermedades inhabilitadoras, como la parálisis cerebral, retardo mental, ceguera o sordera.

Una revisión bacterioscópica de secreciones vaginales, de bajo costo, durante el embarazo puede detectar esas infecciones comunes como la vaginosis bacteriana, trichomoniasis, *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*; un tratamiento oportuno de esas infecciones puede reducir efectivamente internamientos por parto prematuro y bajar las tasas de nacimientos prematuros. La vaginosis bacteriana en particular ha sido constantemente asociada con un incremento significativo del riesgo de nacimientos prematuros. El uso selectivo de antibióticos en mujeres durante el parto prematuro y la ruptura prematura de membranas, reduciría significativamente las tasas de

nacimiento prematuro y el riesgo de complicaciones. La implementación del monitoreo apropiado y el tratamiento de vaginosis bacteriana y otras infecciones prevalentes pueden reducir dramáticamente el exceso de morbilidad y mortalidad de “nacidos prematuramente” a causa de la infección del tracto reproductivo (Mc Gregor JA, 1997).

Es un hecho conocido que las infecciones por *Chlamydia trachomatis* las adquiere el recién nacido durante el parto; además, del 25 al 50% de ellos pueden desarrollar conjuntivitis, y del 10 al 20%, neumonía. *Chlamydia trachomatis* es un importante agente patogénico y su investigación es esencial para los recién nacidos con conjuntivitis o neumonía intersticial, aun cuando no hay factores de riesgo por enfermedades de transmisión sexual.

La infección por *Chlamydia* en el periodo neonatal temprano depende del tiempo y abundancia de la infección del infante, el grado de madurez morfofuncional del recién nacido y la presencia de enfermedades concomitantes relacionadas con condiciones desfavorables de desarrollo intrauterino; es así que esta infección puede tomar las siguientes formas clínicas: sepsis intrauterina, conjuntivitis, meningoencefalitis, neumonía intrauterina, síndrome de dificultad respiratoria, gastroenteropatía (Garland SM, 1997).

La prevención y el tratamiento de las infecciones de transmisión sexual en la población sexualmente activa son los pasos principales para prevenir la infección perinatal. Aun así, la propagación de las enfermedades de transmisión sexual continúa a un ritmo astronómico a pesar de varios intentos de controlar la epidemia. Una razón importante de la falta de control de las enfermedades de transmisión sexual, es que hay un gran porcentaje de población infectada que no ha recibido ningún tratamiento, ya que la enfermedad que padece es una infección asintomática o difícil de reconocer.

En contraparte, otros factores de riesgo no sexuales para la infección de *Chlamydia trachomatis* son comúnmente subestimados. Esta bacteria entra en el cuerpo por las superficies de epitelio mucoso, como la conjuntiva, vagina, uretra o recto, y las ataca, debido a la presencia en el revestimiento epitelial del sulfato de heparán, como glicosaminoglicano, que actúa como receptor o ligando para la bacteria, después de que haya sido incorporada por endocitosis (Zhang JP, 1992).

La propagación de la infección es muy rápida en los epitelios de superficie con una capa de líquido, a causa de la facilidad con la que los microorganismos inmersos en el

fluido mucoso se encuentran con las células, a las que se adhieren, iniciándose así el ciclo de infección (Mims CA, 1995).

El ambiente cálido y húmedo del clima regional, las condiciones de higiene sanitaria en el hogar, en las escuelas y lugares de trabajo pueden facilitar la infección por *Chlamydia trachomatis*, principalmente en el caso de la conjuntivitis. De acuerdo a esto, se ha descrito el autocontrol de las infecciones conjuntivales por *Chlamydia trachomatis* en países fríos. Los climas tropicales y subtropicales son favorables para la propagación de la infección por *Chlamydia trachomatis*; *en este sentido*, el Instituto Nacional Indigenista de México comunica la existencia, en algunas regiones del sureste de México, de comunidades indígenas conocidas como “Zona del Tracoma”, debido a la presentación endémica del problema. En la población con pobreza extrema, la conjuntiva es infectada mecánicamente por depósito y, las moscas, manos sucias, toallas y las malas condiciones de higiene, desempeñan un importante papel en enfermedades como el tracoma y la uretritis (Emerson PM 1999; Pruss A y Marriot SP, 2000). Diagnosticar conjuntivitis de inclusión del adulto y la conjuntivitis neonatal puede ser uno de los retos, ya que estas enfermedades pueden ser fácilmente tratadas sin ocasionar secuelas oculares o sistémicas, cuando son detectadas y tratadas oportunamente (Garland SM, 2000).

En nuestra experiencia, hemos observado que la presentación óculo-faríngeo-genital de la infección por *Chlamydia trachomatis* se detecta en un alto porcentaje de los casos; de acuerdo a algunas publicaciones este tipo de coexistencia es muy común (Dawson C, 1999). Además de las presentaciones conyugales, encontramos infecciones en el seno familiar, descritas también por otros grupos de investigadores (Thomson C, 2001). Estos hechos pueden ser considerados para apoyar la hipótesis de la transmisión no sexual intrafamiliar y/o susceptibilidad genética, previamente propuesta para algunas secuelas (Mozzato-Chamay N, 2000).

Dada la alta incidencia y las características epidémicas de las infecciones provocadas por estos dos microorganismos, además de las dificultades que existen para controlar su propagación por la compleja patogenia y el cuadro clínico ambiguo que generalmente presentan, un elevado porcentaje de pacientes permanecen sin tratamiento (McGregor JA, French JJ, 1997; Schachter J, Grossman M, 1981).

La prevención y el tratamiento adecuado, dirigido y personalizado de las infecciones genitourinarias, ocasionadas por estos microorganismos en la población sexualmente activa, representan uno de los aspectos primordiales para la disminución y control de las complicaciones gineco-obstétricas y perinatales (Cassell GH *et al*, 1993). Se ha reconocido que iniciar la actividad sexual en etapas tempranas de la vida, así como contar con más de una pareja sexual, son factores que incrementan el riesgo de contraer infecciones ocasionadas por gérmenes inespecíficos y de comportamiento biológico atípico, las cuales pueden comprometer y mermar la capacidad reproductiva de la pareja (Nuñez-Troconis JT, 1999).

Como ya se ha mencionado, en las mujeres, a la par de las infecciones genitourinarias masculinas, aparece la infección genital ocasionada por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* como la enfermedad de transmisión sexual más frecuentemente observada en jóvenes (Terán S *et al*, 2001); son estas mismas infecciones las que provocan la mayor incidencia de enfermedad pélvica inflamatoria (Paavonen J y Eggert-Kruse W, 1999). Las alteraciones en el epitelio tubario parecen ser la causa principal por la que estas bacterias disminuyen el potencial fértil. Las infecciones por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* son consideradas las causas de mayor importancia de laceraciones y obstrucción tubárica, enfermedad pélvica inflamatoria y síndrome adherencial (Pellati D *et al*, 2008).

Aunado a la alta asociación que existe entre estos microorganismos y las alteraciones reproductivas y urogenitales, en estudios realizados por nuestro grupo de investigación en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León, hemos concluido que existe una posible asociación entre las infecciones por *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma spp* y las patologías reproductivas, genitourinarias, andrológicas, gineco-obstétricas, respiratorias, oculares, inmunológicas, gastrointestinales y neurológicas.

Chlamydia trachomatis y *Ureaplasma urealyticum* son bacterias caracterizadas por invadir el epitelio columnar de revestimiento del cérvix. En este sitio, el proceso infeccioso genera una intensa respuesta inflamatoria, caracterizada por la presencia de enrojecimiento de la región circundante, además de importantes descargas exudativas, estos factores determinan la aparición de síntomas clínicamente evidentes (Agrawal T *et al*, 2009; Smith DGE *et al*, 1994).

Aunque algunas de las secuelas asociadas al proceso infeccioso son la cicatrización tubárica y la infertilidad, así como la formación de hidrosálpinx, son muy poco entendidos los factores asociados a los mecanismos patogénicos que llevan a estas secuelas crónicas de la infección. Algunas publicaciones recientes sugieren que la respuesta inflamatoria aguda puede causar las alteraciones iniciales que conducen a estos resultados, sin embargo, las infecciones persistentes que llevan a inflamación crónica son también posibles causas.

La endometritis se presenta comúnmente como un síndrome que implica la inflamación sistemática del revestimiento epitelial mucoso de la cavidad uterina. La endometritis es habitualmente causada por procesos infecciosos que, con alta frecuencia, son atribuibles a *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* y algunas otras bacterias que colonizan el tracto genitourinario para las que aun no se ha comprobado su relación, tal es el caso de *Ureaplasma urealyticum*.

La endometriosis está presente en un 40% de parejas con infertilidad, y del 30 al 50% de las mujeres la padecen. Su etiología sigue siendo un enigma por su origen poco claro. Esto ha determinado que los tratamientos hasta ahora sean insuficientes, y la recidiva del problema sea común. Estudios acerca de la etiopatogenia de endometriosis siguen siendo de interés.

Nuestro grupo se ha centrado en el estudio de las infecciones genitourinarias y su impacto sobre la fertilidad conyugal, encontrando hasta un 79% de los casos asociados a *Chlamydia trachomatis*; los signos y síntomas característicos, como dolor pélvico, dismenorrea, distensión abdominal y dispareunia, se consignan normalmente también como indicativos de endometriosis; cabe preguntarse si la endometriosis pudiera tener una relación con la infección (Gazvani R *et al*, 2011, Resultados publicados en la XIX Reunión Bienal de la ALIRH, Cartagena de Indias, Colombia, 2005).

Es importante investigar los aspectos clínicos asociados que se observan en las pacientes con problemas de infertilidad ocasionada como consecuencia de un proceso infeccioso subclínico, crónico y terapéuticamente mal tratado; así como determinar las alteraciones histológicas observables en el tejido endometrial, y conseguir la demostración in situ de las bacterias. Por ello, el propósito de nuestro estudio fue seleccionar una muestra representativa del total de la población de pacientes que acudieron a la consulta de reproducción en el periodo comprendido de 2002 a 2010.

En nuestro estudio, la evaluación clínica, microbiológica e histopatológica de una muestra representativa de la población de pacientes que acudieron a la consulta clínica de infertilidad conyugal, nos brindó información importante respecto a la patogenia de la infección endometrial ocasionada por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*. En un estudio realizado hace algunas años por Paavonen *et al.* (1985) se investigó la relación entre *Chlamydia trachomatis* y la inducción de infección endometrial; en este estudio las biopsias endometriales fueron obtenidas de 32 mujeres con sospecha de enfermedad inflamatoria pélvica, de los cuales 23 (72%) tenían evidencia histopatológica de endometritis. En sus resultados, *Chlamydia trachomatis* fue aislada en el 39% de las pacientes estudiadas (Paavonen J *et al.*, 1985). Nuestro estudio se basó en la investigación específica de 29 pacientes con infección comprobada para *Chlamydia trachomatis* mediante el diagnóstico con inmunofluorescencia directa.

La técnica de Inmunofluorescencia Directa (IFD) sigue siendo uno de los métodos comúnmente utilizados para el diagnóstico de *Chlamydia spp.* debido a que presenta una buena sensibilidad y especificidad. Su sensibilidad es del 80 al 90% y, debido a la utilización de anticuerpos monoclonales, presenta una alta especificidad, del 98 al 99%. Nuestro grupo considera la técnica IFD como muy valiosa, ya que permite la visualización de los cuerpos elementales y cuerpos reticulares dentro de las células epiteliales. Esta técnica es además muy práctica, porque su tiempo de realización es inferior a 30 minutos y no requiere cultivo ni medios especiales de transporte o refrigeración de la muestra para su traslado al laboratorio (Moller BR, 1982; Chemesky MA *et al.*, 1986; Quinn TC *et al.*, 1987).

Otra de las ventajas de la IFD es que nos permite evaluar la calidad de la muestra debido al contenido celular. Una muestra inadecuada no contiene una cantidad apropiada de células necesarias para la correcta identificación bacteriana (Newhall WJ, 1999; Gallegos-Ávila MG, 2005). Por otro lado, para la comprobación de la infección endometrial por *Ureaplasma urealyticum* empleamos como método diagnóstico el cultivo selectivo API en muestras de exudado cervical.

La infección por *Chlamydia trachomatis* generalmente sigue un curso asintomático en aproximadamente el 80% de mujeres, y se asocia con una morbilidad reproductiva grave (Zimmerman H *et al.*, 1990). Esta bacteria puede infectar las células epiteliales columnares del cérvix y endocérnix ocasionando, en la gran mayoría de los casos,

inflamación crónica y asintomática de esta región del tracto reproductivo (Stamm W *et al*, 2001; Marazzo J, 2007), además, también está relacionado con inflamación crónica de la uretra (Stamm W *et al*, 2001; Marazzo J, 2007). Aunque la cervicitis por *Chlamydia trachomatis* a menudo es asintomática, se ha observado que causa secreción mucopurulenta en aproximadamente el 37% de las mujeres (Wallin J *et al*, 1981). Sin embargo, no existen síntomas específicos genitales que se correlacionen con la infección del cuello del útero para el diagnóstico (Stamm W *et al*, 2001). La serie de secuelas cicatriciales que se instalan silenciosamente determinan que las infecciones por *Chlamydia trachomatis* constituyen un importante problema de salud. Por tanto, la búsqueda prospectiva, sistemática y rigurosa de infecciones genitales por *Chlamydia trachomatis* en la pareja determinará un positivo progreso en el control oportuno y en la prevención de esta enfermedad de transmisión sexual (Westrom, 1990; Fenton KA, 2004).

Chlamydia trachomatis es un patógeno frecuente de enfermedad pélvica inflamatoria (EPI) y se aísla del tracto genital superior en una cuarta parte de los pacientes con EPI (Ness R *et al*, 2002). También, se ha encontrado que se asocia tanto con endometritis (Haggerty C *et al*, 2010), como con salpingitis laparoscópicamente confirmada (Eckert L *et al*, 2002). Sin embargo, las tasas de progresión varían ampliamente entre los pacientes. A pesar de que las infecciones no complicadas son a veces asintomáticas y clínicamente indolentes, sus secuelas son frecuentemente causa de infertilidad conyugal, de complicaciones obstétricas, incluidas el aborto repetitivo (Taylor-Robinson *et al*, 2009) y de secuelas prolongadas en los hijos recién nacidos (Mardh PA, 2002).

Otros aspectos de la infertilidad de la pareja pudieran estar relacionados con la coexistencia de infecciones mixtas por *Chlamydia trachomatis* y por Virus del Papiloma Humano, y aunque recientemente algunos autores han fallado en la comprobación del efecto cooperador entre estos dos tipos de microorganismos en la producción de carcinoma del cuello uterino, se sigue indagando sobre la posible acción cooperadora de estos procesos infecciosos (Luostarinen *et al*, 2004). Las re-infecciones por *Chlamydia trachomatis* son comunes y puede aumentar el riesgo de secuelas ginecoobstétricas y reproductivas (Evans *et al*, 2009).

En un estudio realizado en 11.000 mujeres de entre 10 y 44 años, que habían presentado 3 reinfecciones o más por *Chlamydia trachomatis*, se observó que eran seis veces más propensas a ser diagnosticadas con EPI (Ness *et al*, 2008). Por otra parte, las

personas con ambas infecciones (*Chlamydia trachomatis* y VPH) y que habían presentado 3 re-infecciones o más, presentaban un riesgo cuatro veces mayor de presentar un embarazo ectópico (Skjeldestad *et al*, 2009).

Las tasas reales de progresión de la infección por *Chlamydia trachomatis* son desconocidas. Los estudios han encontrado asociaciones con las infecciones por esta bacteria y bacterias del género *Mycoplasma spp.* en pacientes con infertilidad, aborto recurrente, embarazo ectópico, ruptura prematura de membranas placentarias y procedimientos de reproducción asistida fallidos (Gaudoin *et al*, 1999). Esta carencia de datos se puede deber a la aplicación de criterios de estudio diferentes en la selección y la realización de distintos métodos diagnósticos; por ello, aún no existe un consenso acerca de la frecuencia real de IGU y de su repercusión sobre la salud reproductiva conyugal (Wolf H, 1998, Gonzales GF *et al*, 2004). Al menos en parte, esto es debido a que el diagnóstico rutinario de *Chlamydia trachomatis* y de *Mycoplasma spp.* es todavía poco accesible, lo que dificulta establecer su relación con la infertilidad. *U. urealyticum*, *Mycoplasma hominis* y *Mycoplasma genitalium* necesitan condiciones especiales para su crecimiento, no forman colonias macroscópicas, y la identificación por un cambio de color en el medio de cultivo selectivo, para el caso de los micoplasmas, puede ser susceptible, en algunos casos, de interpretación errónea.

El diagnóstico de estos gérmenes también puede fallar si las muestras analizadas no son representativas de la región infectada del tracto genital. Desde hace dos décadas, se ha venido acentuando el estudio de la relación de la infección por estas bacterias y sus efectos en la reproducción. Un estudio retrospectivo de 51 mujeres con EPI encontró que aquellos que fueron cultivo positivo para *Chlamydia trachomatis* tuvieron más probabilidades de experimentar infertilidad involuntaria, en comparación con aquellos que dieron negativo para la clamidia (Safrin *et al*, 1992).

Las infecciones inespecíficas del aparato genitourinario, particularmente las causadas por *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma spp.*, se ven asociadas a la infertilidad conyugal y a otros trastornos reproductivos, generando un impacto en la salud materno infantil. Tal es el caso de la creciente incidencia de embarazos ectópicos, aborto temprano y recurrente, ruptura prematura de membranas, muerte fetal in útero, septicemia materna y fiebre post parto e infecciones respiratorias y del sistema nervioso del recién nacido (Cassell *et al*, 2001).

La prevalencia de infecciones genitourinarias graves y de comportamiento biológico atípico varía ampliamente en los distintos grupos estudiados. Así, el beneficio de la búsqueda, en pacientes con problemas para procrear, de cualquier microorganismo específico, como *Chlamydia trachomatis* o *Ureaplasma urealyticum*, está determinado por el estilo de vida de la paciente. En la práctica clínica privada, una gran cantidad de las pacientes con problemas de fertilidad y que provienen de grupos supuestamente de menor riesgo de enfermedades del tracto genitourinario, se oponen generalmente al estudio de estas infecciones. Por lo tanto, no hay un esquema satisfactorio para buscar microorganismos patógenos genitales potenciales, que pudiera aplicarse igualmente a todas las pacientes con una mala historia reproductiva.

No obstante, para todas las mujeres infecundas, es seguro sugerir que cualquier vaginitis o cervicitis debe estudiarse y eliminarse, de ser posible, para aminorar la tasa de complicaciones en el embarazo. Las infecciones por *Chlamydia trachomatis* pueden diseminarse hacia el neonato y producir conjuntivitis y neumonía.

La vaginosis bacteriana coexiste con trabajo de parto pre-término, retraso del crecimiento intra-uterino, corio-amnionitis y endometritis post-parto. El propósito de identificar y eliminar gérmenes patógenos genitales se aplica a todas las pacientes que quieren procrear, pero es de especial importancia si son infecundas o presentan malos antecedentes gestacionales.

La infección genital crónica puede ser la manifestación inicial más obvia de un problema de salud general. La identificación de un microorganismo patógeno en estos casos puede llevar a un diagnóstico médico importante. Es crucial la eliminación de *Chlamydia trachomatis* antes de la histerosalpingografía o la inseminación artificial, porque se puede producir una infección de la porción superior del aparato genital durante el procedimiento.

Estudios serológicos han señalado la relación entre *Chlamydia trachomatis* y el aborto habitual, y se ha recomendado la investigación sistemática de todas las pacientes infértiles. Las pruebas microbiológicas de la infección endocervical por *Chlamydia trachomatis* durante el embarazo no ha podido confirmar la relación con el aborto habitual. Un trabajo realizado hace dos décadas ya sustentaba la hipótesis de que cualquier tipo de

infección puede identificarse como factor causal de pérdida gestacional recurrente (Summers PR, 1994).

En nuestro presente trabajo de Tesis Doctoral, en casi el total de las pacientes estudiadas se detectó alguno de los parámetros clínicos indicativos de un proceso infeccioso del tracto genitourinario activo, lo que sugiere que en este grupo de pacientes existe una estrecha relación entre la presencia de los procesos infecciosos y las alteraciones reproductivas. Por otra parte, entre las alteraciones comúnmente observadas en las pacientes infértiles y con infección, se encuentra la presencia de secreción vaginal anormal, la cual es característico que aparezca fuera de los periodos ovulatorio y menstrual.

A pesar de las escasas publicaciones existentes sobre los aspectos clínicos que se presentan en las pacientes con procesos infeccioso por *Chlamydia trachomatis* y/o *Ureaplasma urealyticum*, observaciones previas realizadas por nuestro grupo de investigación confirman que, dentro de las características clínicas de las pacientes con infecciones crónicas ocasionadas por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*, es común detectar la presencia de alteraciones en las secreciones premenstruales. En el grupo de pacientes evaluadas clínicamente, entre la gran variedad de alteraciones en las secreciones vaginales cabe destacar la presencia constante de material mucoso hiperviscoso, cristalino y ligeramente amarillento, y, en algunos casos, de apariencia ligamentosa. Estos resultados concuerdan con las observaciones previamente descritas por nuestro grupo de investigación (Datos no publicados).

El término “sangrado uterino anormal” o “sangrado menstrual atípico” ha sido empleado para describir, cualquier tipo de secreción menstrual que no cumpla con los criterios de normalidad. Las causas de sangrado uterino anormal incluyen un amplio espectro de enfermedades del tracto reproductivo. En un estudio realizado en 2011 por Doraiswami *et al.*, investigaron 620 pacientes que presentaban sangrado menstrual atípico, en 409 de las cuales se contaba con espécimen para realizar el estudio histopatológico del endometrio. Los resultados mostraron que las pacientes con alteración en las características del sangrado menstrual eran más propensas a presentar alteraciones proliferativas, complicaciones para lograr el embarazo, generación de pólipos benignos, hiperplasia endometrial, carcinomas y endometritis crónica (Doraiswami *et al*, 2011).

En nuestro estudio de 29 pacientes con endometritis ocasionada por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*, en 27 pacientes se observó la presencia de sangrado menstrual atípico, caracterizado por la presencia de contenido mucoso abundante, denso, con coágulos grandes o numerosos, así como la presencia de tejido o membranas. Otras características observadas y que podrían considerarse dentro de los indicativos de anormalidad en el sangrado menstrual son: la presencia de sangrado menstrual de color rojo oscuro o café rojizo, precedido y/o seguido de secreción vaginal café claro ó café oscura, el cual generalmente presenta una duración variable, desde unas horas hasta varios días, y de apariencia variable, desde líquida o mucosa hasta seca y grumosa.

Por otro lado, además de los signos y síntomas antes mencionados, los cuales fueron detectados al momento de la evaluación clínica de las pacientes incluidas en este estudio, durante la realización del interrogatorio intencionado, refirieron la presencia de datos clínicos que son indicativos de síndromes de comportamiento crónico que, en ocasiones, tuvieron presentaciones sub-agudas y con episodios de exacerbación. Fue una constante que las pacientes refirieran la presencia de síntomas compatibles con enfermedad pélvica inflamatoria, caracterizada por la presencia de dolor punzante y agudo en el hipogastrio y, en algunos casos, localizado en las fosas ilíacas y asociado con distensión abdominal.

Existe una alta incidencia de EPI aguda, sin embargo, en comparación con décadas pasadas, son menos frecuentes las consultas ginecológicas y obstétricas por este síndrome. A pesar de la menor incidencia de EPI aguda, las tasas de infertilidad tubárica aun siguen siendo una entidad clínica frecuentemente observada en la consulta de reproducción; esto sugiere que la EPI crónica, o no detectada y tratada inadecuadamente, sigue desencadenando alteraciones reproductivas. La EPI subclínica es común en mujeres con episodios de cervicitis ocasionada por *Chlamydia trachomatis*. A pesar de que se conoce el efecto deletéreo que tienen en el potencial fértil las infecciones por *Chlamydia trachomatis* aun existen discrepancias en estas aseveraciones. Recientemente, en 2012, Wiesenfeld *et al.* realizaron un estudio clínico en el que evaluaron si mujeres con EPI subclínica presentaban incremento en el riesgo de infertilidad, llegando a la conclusión de que este síndrome sí reduce o merma el potencial fértil de las mujeres, a pesar de que sean administrados algunos agentes terapéuticos. Estos hallazgos sugieren que una alta proporción de los problemas de fertilidad en las mujeres son atribuibles a la EPI subclínica, y los autores concluyen que las terapias actuales para contrarrestar las infecciones por estas

bacterias son inadecuadas para la prevención de la infertilidad (Wiesenfeld HC *et al*, 2012).

Es frecuente que en nuestra consulta de infertilidad se presente un alto porcentaje de parejas con problemas para procrear y que refieren complicaciones causadas por EPI e infecciones endometriales crónicas o subclínicas.

La presencia de estenosis cervical u obstrucción del canal cervical está frecuente relacionada con procesos infecciosos repetitivos en el tracto genitourinario. Desde hace muchos años se planteó que la serie de alteraciones de la función menstrual, llamadas "síndrome de disfunción cervical con reversión menstrual", sean el factor etiológico de muchos cuadros de dolor pélvico crónico, así como de afecciones tan importantes como la endometriosis.

En la actualidad, y debido quizás al incremento en el número de abortos y en ocasiones a factores constitucionales hereditarios o genéticos, es muy frecuente que se establezca este síndrome al existir una estenosis u oclusión anatómica o funcional del orificio cervical interno o de todo el canal cervical, que hace que la sangre menstrual fluya hacia la cavidad abdominal en lugar de verse al exterior, lo que con el paso del tiempo provoca grandes trastornos a la mujer (Walid MS y Heaton RL, 2011).

La presencia de obstrucción cervical en la mayoría de los casos se ve relacionada con la presencia de focos de tejido endometrial en regiones anatómicas distintas al útero, el tejido endometrial puede ser glandular, epitelial o estromal. Este síndrome induce una reacción inflamatoria crónica, además de la presencia de tejido cicatricial y adherencias uterinas que se asocian a graves problemas reproductivos en la mujer, en general, a alteraciones en la anatomía del tracto reproductivo; en algunos otros casos se presenta EPI, dismenorrea y dispareunia (Damario MA y Rock JA, 1996).

En nuestro trabajo, el 14% de las pacientes investigadas presentaron una disminución muy marcada del calibre del orificio externo del cérvix uterino, con estenosis del conducto cervical. Estos resultados indican la posible influencia de las infecciones crónicas por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* en la génesis de alteraciones anatómicas del conducto cervical.

En un número similar de pacientes, se observó la presencia de cervicitis hipertrófica mucopurulenta y cierre casi total del conducto cervical, además de ectropión, pólipos del endocérvix y localización excéntrica del cuello del útero, que es un signo representativo de distopia uterina. Estas características son indicativas de la cronicidad del proceso inflamatorio inducido por la infección por estos gérmenes.

La EPI es una condición clínica que se manifiesta como inflamación aguda o crónica del útero, trompas de Falopio y estructuras pélvicas adyacentes. Se ha comprobado que existe una alta incidencia de infertilidad ocasionada por factor tubario en mujeres que no han cursado con sintomatología de inflamación pélvica; numerosos estudios científicos retrospectivos han demostrado una fuerte asociación entre la infertilidad ocasionada por factor tubario y las infecciones previas por bacterias de comportamiento biológico atípico, como *Chlamydia trachomatis*, sin que se haya presentado sintomatología clínica aparente que indique inflamación pélvica (Kodaman PH *et al*, 2004).

El daño generado a los órganos del tracto genital superior puede ser ocasionado por un proceso inflamatorio que no presenta datos clínicos aparentes, a esta condición se le denomina infección o inflamación subclínica, no reconocida o infección pélvica silente. A pesar de la existencia de antecedentes históricos importantes que respaldan la hipótesis de que las infecciones subclínicas pueden originar infertilidad, se conoce muy poco acerca de la relación entre las infecciones pélvicas y las infecciones subclínicas. Estudios preliminares sugieren que la mujeres con infecciones del tracto genital inferior presentan mayor riesgo de sufrir inflamación pélvica, aún sin mostrar sintomatología clásica evidente (Likis FE, 2007). Todo lo anterior refuerza la hipótesis del mecanismo ascendente que siguen los microorganismos para ocasionar infecciones en el tracto genital superior.

Las infecciones del tracto genital superior se clasifican para su estudio en aquéllas que afectan a los ovarios y a las trompas de Falopio, comúnmente se presentan como un síndrome combinado catalogado como infección o inflamación tubo-ovárica que, en algunos casos, puede afectar el útero (Likis FE, 2007). A este síndrome generalmente se le denomina Enfermedad Pélvica Inflamatoria y se caracteriza por causar síntomas, como la inflamación en la cavidad abdominal baja. Generalmente es una complicación seria de algunas infecciones de transmisión sexual, especialmente de las infecciones causadas por *Chlamydia trachomatis* (CDC, 2011).

En nuestro medio no contamos con cifras fiables sobre la incidencia de EPI, ni a nivel nacional ni regional. En los Estados Unidos de Norte América se estima que cada año más de un millón de mujeres son tratadas por salpingitis aguda. La incidencia es máxima en adolescentes y mujeres menores de 25 años. Esta afección y sus complicaciones son causa de más de 2.5 millones de consultas y más de 150.000 procedimientos quirúrgicos cada año. De 18 a 20 de cada 1000 mujeres, entre 15 y 24 años de edad, presentan un cuadro de salpingitis cada año, siendo la salpingitis aguda (SA) la causa del 5 al 20% de hospitalizaciones en los servicios de ginecología en USA. Del 8 al 20% de las mujeres no tratadas con infección endocervical por *Neisseria gonorrhoeae* o *Chlamydia trachomatis* desarrollaron salpingitis aguda; más del 25% de las pacientes con salpingitis aguda tienen menos de 25 años y un 75% son nulíparas. La SA es responsable de aproximadamente el 20% de los casos de infertilidad (Gerbase AC *et al*, 1998).

Las adolescentes son más susceptibles de desarrollar salpingitis aguda debido a que el epitelio columnar endocervical se extiende más allá del endocérvix (llamado ectopia cervical), produciéndose una gran área cubierta por epitelio columnar y escamocolumnar, que es más susceptible a las infecciones por *Chlamydia trachomatis*. La *Chlamydia trachomatis* parece no crecer en las células escamosas del exocérvix y la vagina. También se ha identificado con claridad que las mujeres con numerosos compañeros sexuales exhiben mayor riesgo de sufrir salpingitis aguda (Lardenoije CM y Land JA, 2007)

Durante la menstruación las alteraciones en el moco cervical facilitan la migración ascendente de las bacterias hacia la cavidad endometrial. El uso de anticonceptivos orales altera el moco cervical y el tejido endometrial, el cual ayuda a bloquear la infección ascendente al igual que los agentes anticonceptivos de barrera; así mismo, se ha determinado el efecto bactericida de los espermicidas. No es claro el papel de los anticonceptivos orales en el riesgo de la EPI, si bien su acción sobre el moco cervical es protectora, en algunos estudios se ha encontrado que los estrógenos y la progesterona facilitan el crecimiento, sobrevida y ascenso de la infección por *Chlamydia*. Además se sabe que los anticonceptivos orales pueden facilitar el desarrollo de ectropión (Greenwood SM y Moran JJ, 1981).

En los resultados de nuestra investigación, observamos una alta incidencia de enfermedad pélvica inflamatoria, lo que concuerda con las referencias de asociación de los

procesos infecciosos ocasionados por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* con las complicaciones inflamatorias de los órganos del tracto genital superior.

Además de esto, la exploración clínica de las pacientes mostró como hallazgos la presencia de endometriosis, endometriomas e inflamación tubaria. Así mismo, un alto porcentaje de pacientes presentaron obstrucción tubaria de una o de ambas trompas de Falopio, observándose además adherencias pélvicas.

Las irregularidades en la menstruación con una pérdida excesiva de sangre se correlacionan clínico-patológicamente con una gran variedad de patologías, diagnosticables con el estudio histológico de una biopsia endometrial. (Khare A *et al.*, 2012). Una investigación realizada por Muzaffar *et al.*, en 2005, refirió el estudio de 260 pacientes con alteraciones en la menstruación (menorragia, metrorragia, polimenorrea y polimenorragia), y cuya biopsia de endometrio demostró alteraciones tisulares, como hiperplasia endometrial, endometritis crónica no específica, pólipos endometriales, endometrio con disociación de la maduración, endometrio atrófico, metaplasia escamosa y, en algunos casos, neoplasias (Muzaffar M *et al.*, 2005).

El síndrome de Asherman, adherencias uterinas o sinequias uterinas, se caracteriza por la formación interna de tejido cicatricial que se adhiere al interior de la cavidad uterina. En muchos casos las paredes del útero se pegan entre sí. En otros casos, las adherencias solamente se producen en una pequeña porción del útero. La extensión de las adherencias define si el caso es leve, moderado o severo; además de esto, las adherencias pueden ser delgadas o gruesas y se pueden localizar en un punto o pueden ser confluentes.

La mayoría de las pacientes con adherencias endometriales tienen sangrados menstruales escasos o ausentes (oligomenorrea o amenorrea). Algunas de las pacientes que no tienen periodos menstruales sienten el dolor característico cada mes, en el momento en el que deberían tener su menstruación. Este dolor puede indicar que la menstruación se está produciendo, pero la sangre no puede salir del útero porque el cérvix está bloqueado por las adherencias. La presencia de sinequias uterinas también puede estar asociada con abortos recurrentes e infertilidad (Valle RF y Sciarra JJ, 1988; Schenker JG y Margalioth EJ, 1982).

Por otra parte, la endometriosis es una entidad clínica que se genera cuando un tejido endometrial crece fuera del útero, generalmente en las superficies de los órganos

localizados en la cavidad pélvica y abdominal. Es frecuente encontrar tejido endometrial localizado en la región ovárica y sobre las trompas de Falopio. En los procesos infecciosos es común observar la presencia de focos de endometriosis. Está comprobada la asociación de la infección ocasionada por *Chlamydia trachomatis* con la endometriosis (Gazvani R *et al*, 2011).

La entrada de sangre menstrual y de fragmentos de tejido endometrial al abdomen desencadena un mecanismo de defensa inmunológica, con afluencia hacia ese sitio de gran cantidad de leucocitos, fundamentalmente macrófagos, e inicio de una respuesta inflamatoria hística con concentración local de prostaglandinas, interleucinas y otras sustancias que contribuyen a favorecer la fagocitosis y destrucción de todos los tejidos invasores. Cuando la entrada de estos elementos es muy grande o se asocia con la existencia de una pobre respuesta de defensa inmunitaria, quedarán células que no son devoradas y que por pertenecer al endometrio poseen una gran capacidad de multiplicación. De ésta forma se establecen focos de este tejido en el peritoneo, el tejido celular laxo de la pelvis y las trompas de Falopio (Doraiswami S *et al.*, 2011). Al ocurrir la privación hormonal del ciclo ovárico, que motiva el sangrado del endometrio normal, también se produce sangrado en los focos endometriósicos; cuando éstos se encuentran localizados en el espesor de un tejido sólido irán creando un hematoma en su periferia, que crecerá con cada ciclo. Este hematoma se organiza al motivar reacción de fibrosis y solidificación en sus límites, que favorecerán la constitución de la controvertida cápsula de los endometriomas. El sitio donde más se originan endometriomas es a partir de los focos que crecen en el espesor del tejido ovárico (Gazvani R *et al.*, 2011 y 2012).

Nuestro grupo de investigación ha publicado previamente tres casos de parejas con infertilidad e infección genitourinaria. A estas pacientes se les diagnosticó la presencia de *Chlamydia trachomatis* empleando anticuerpos monoclonales fluorescentes (IFD), en el endocervix y en el exfoliado uretral; el tratamiento consistió en un esquema rotatorio de antibióticos específicos durante 6-16 meses. Durante la evolución, se detectó por ultrasonografía la presencia de masas anexiales, compatibles con endometriomas, diagnosticándose en laparoscopia endometriosis severa. El tejido de la cápsula endometrial y nódulos endometriósicos, se estudiaron por IFD para la búsqueda de *Chlamydia trachomatis*, observándose más de 100 cuerpos elementales por campo. Las pacientes fueron tratadas terapéuticamente con antibióticos específicos. Las tres pacientes se

quedaron embarazadas de forma espontánea en el ciclo menstrual posterior al tratamiento, evolucionando satisfactoriamente (Resultados publicados en la XIX Reunión Bienal de la ALIRH, Cartagena de Indias, Colombia, 2005).

Como ya se ha referido, nuestros resultados concuerdan con lo publicado en la literatura. El grupo de pacientes estudiadas presentaron correlación entre los signos, los síntomas y las manifestaciones clínicas. Fue común observar la presencia de sangrado menstrual atípico, adherencias uterinas, endometriosis y enfermedad pélvica inflamatoria. Todas estas manifestaciones clínicas asociadas al proceso infeccioso ocasionado por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*, tiene como consecuencia final la presencia de problemas reproductivos, una alta incidencia de abortos y pérdidas gestacionales, y, en general, un sin-número de manifestaciones gineco-obstétricas devastadoras.

El endometrio humano es un tejido complejo y dinámico que sufre cambios específicos a lo largo del ciclo menstrual en respuesta a cambios en las hormonas esteroideas circulantes. Está compuesto por una variedad de tipos celulares, que incluyen epitelio glandular y de superficie, estroma, endotelio vascular, células de músculo liso, macrófagos y monocitos presentes de forma transitoria. Clásicamente, el endometrio ha sido reconocido como un órgano diana para las hormonas esteroideas y, de hecho, tanto los aspectos histológicos como ultrasonográficos de este tejido son claramente dependientes de los esteroides. Sin embargo, existen mediadores de la acción de las hormonas esteroideas derivados de los tipos celulares que se encuentran en el endometrio y que permiten a las células vecinas dentro de los tejidos comunicarse de una forma paracrina. Estos mediadores se pueden clasificar de forma general en dos clases; factores de crecimiento y citocinas. Los mediadores facilitan el rápido crecimiento que ocurre en el endometrio, la diferenciación que el mismo sufre en preparación del embarazo y la descamación del tejido en el momento de la menstruación. El endometrio tiene la propiedad única de necesitar comunicarse de una forma paracrina con el embrión que lo está invadiendo, acomodarlo y simultáneamente prevenir la invasión excesiva del embrión en el huésped materno. Esta relación simbiótica comprende comunicaciones paracrinas muy minuciosas entre la madre y el embrión de las que depende la continuación de la especie humana.

La detección *in situ* de gérmenes compatibles morfológicamente con *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* es una herramienta que nos ha permitido investigar

la presencia de estas bacterias directamente en el tejido estudiado, así mismo, esta técnica nos ha permitido correlacionar la posición de las bacterias en el espécimen con los datos morfológicos observados.

La valoración citomorfológica por microscopía óptica a 1000X y empleando tinciones de alto contraste, nos permitió investigar la presencia de partículas bacterianas con morfología compatible con *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*; como ya se mencionó, esta técnica está ampliamente estandarizada por nuestro grupo de investigación (G. Gallegos- Ávila, Tesis Doctoral, 2005). Son consideradas bacterias comparables con estos géneros, aquellos cuerpos que presentan morfología esférica o coco-bacilar de 0,2 micrómetros en el caso de *Ureaplasma spp*, o partículas esféricas de 0,2 a 0,5 micrometros de diámetros, con contorno regular y halo periplasmático en el caso de *Chlamydia spp*. En una de nuestras investigaciones recientes hemos podido comprobar la estirpe bacteriana de este último tipo de partículas, observadas en cortes semifinos de líquido seminal de hombres infértiles, aplicando la técnica de IFD con anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína (A. Niderhauser-García, Tesis Doctoral, 2012)

En el presente trabajo realizado en tejido endometrial, a pesar de la amplia fiabilidad de estas técnicas citomorfológicas, fue importante realizar la comprobación del diagnóstico microbiológico empleando técnicas consideradas “*gold standard*”, prueba de IFD para *Chlamydia trachomatis* y Cultivo específico para *Ureaplasma urealyticum*.

Por otra parte, realizamos la valoración histopatológica y evaluamos los hallazgos distintivos de los procesos inflamatorios endometriales.

Las infecciones crónicas por *Chlamydia trachomatis* comúnmente ocasionan la liberación de mediadores que promueven el flujo continuo de células inflamatorias, e inducen daño al epitelio del tejido huésped provocando cicatrización y, en último grado, promoviendo la fibrosis tisular (Molano M *et al.*, 2005). Las reinfecciones son muy frecuentes, por ello, la inducción repetida de la respuesta inflamatoria en contra de la bacteria puede, a su vez, provocar daños constantes y sostenidos en el tejido del huésped y provocar secuelas cicatriciales (Burstein GR *et al.*, 1998).

Shah *et al.*, en 2005, investigaron el efecto de la infección por *Chlamydia muridarum* en el TGS de ratones en edad reproductiva; sus resultados demuestran que la inducción de fibrosis en los órganos del TGS es una consecuencia clara de la infección por Clamidias.

En las muestras examinadas después de 56 días post-infección, teñidas con Tricrómico de Masson, observan un grado significativo de fibras de colágena subepitelial en el tejido estromal, identificado como tejido fibrótico. Estos autores concluyen que la fibrosis se origina como resultado del ascenso de la infección del TGI hacia el TGS. La formación de tejido fibrótico, hidrosálpinx, la oclusión tubárica y la infertilidad son una consecuencia de esta infección (Shah AA *et al.*, 2005).

Rasmussen *et al.*, en 1997, son los primeros investigadores que enfatizan la importancia de las células epiteliales, mostrándolas como la primera y una de las principales líneas de defensa en contra de la infección por *Chlamydia trachomatis*. Además, sus estudios demuestran que la infección por *Chlamydia trachomatis* de las células epiteliales cervicales y de colon *in vitro* induce la secreción de una amplia gama de citocinas con funciones proinflamatorias y quimio atrayentes (Rasmussen SJ *et al.*, 1997).

Las células epiteliales endocervicales liberan interleucina 1- α después de la infección. La IL-1 α , liberada por la lisis de las células epiteliales, actúa amplificando la respuesta inflamatoria, estimulando la producción adicional de citocinas. Estos hallazgos forman las bases del “paradigma celular de la patogénesis de la infección por *Chlamydia trachomatis*”, en el cual se teoriza que “el proceso inflamatorio involucrado en la patogénesis de la infección por *Chlamydia trachomatis*, provocado por las células huésped infectadas, es necesario y suficiente para provocar inflamación crónica y promover la proliferación, la remodelación tisular y la cicatrización, las cuales son causas de las secuelas de la infección” (Stephens RS *et al.*, 2003).

Una de las características histopatológicas más frecuentemente observada, en el tejido endometrial de las pacientes con infección genital por *Chlamydia spp.* y *Ureaplasma spp.* demostrada microbiológicamente, fue la presencia de células epiteliales reactivas (CER), tanto en las células del epitelio endometrial de revestimiento como en las células del epitelio glandular, resultados que concuerdan ampliamente con los datos descritos por distintos grupos de investigación.

Aunado a estas alteraciones, como consecuencia de los mecanismos patogénicos de estas bacterias, observamos la existencia de alteraciones celulares. La presencia de células morfológicamente alteradas, fue una constante entre nuestros resultados. Por ser gérmenes con un ciclo de desarrollo en el que una de sus etapas primordiales es intracelular, la

generación de alteraciones morfológicas y funcionales en la célula huésped es un aspecto importante observado en los especímenes tisulares con estas infecciones.

En un estudio realizado por un miembro de nuestro grupo de investigación como tesis doctoral, se implementó un modelo de endometritis murina ocasionada por la coinfección por *Chlamydia trachomatis* y/o *Ureaplasma urealyticum*, observando la presencia de alteraciones celulares evidentes, como hiperplasia, reactividad celular, edema estromal e importante infiltrado inflamatorio, predominantemente de polimorfonucleares (Alvarez Cuevas S, Tesis Doctoral, 2012).

En diversos estudios se ha intentado corroborar el efecto de la respuesta inflamatoria en el mecanismo patogénico de la infección por *Chlamydia trachomatis*. Hvid *et al.*, en 2007, comprobaron que adicionando un antagonista para el receptor IL-1 a células en cultivo, se impedía completamente la destrucción tisular inducida por la infección, indicando el rol directo de esta citocina en el mecanismo patogénico de la infección por *Chlamydia trachomatis* (Hvid M *et al*, 2007). Por otra parte, durante la infección *in vitro* de células epiteliales de trompas de Falopio se observa la inducción de producción de Factor de Necrosis Tumoral, así mismo, se promueve el incremento en la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales del oviducto (Ault KA *et al*, 1996; Kelly KA *et al*, 2001).

La producción de quimiocinas y citocinas proinflamatorias también se ha descrito durante la implementación de modelos murinos de infección del tracto genital por *Chlamydia trachomatis*. Está documentado que ocurre una sobre-expresión de integrinas en el tracto genital murino, lo cual coincide con el inicio de la infección, así mismo, también se han detectado la proteína inflamatoria de mMacrófagos-2 (MIP-2), la cual es una quimiocina producida por neutrófilos, y es considerada como análoga de la IL-8 humana (Kelly KA *et al*, 1996; Shah AA *et al*, 2005).

En la evaluación de la presencia de infiltrado inflamatorio en el tejido endometrial de las pacientes estudiadas, encontramos una alta incidencia de casos con infiltrado linfocitario, plasmocítico y de polimorfonucleares, hallazgos que coinciden con lo publicado previamente en la literatura. Un aspecto importante durante la evaluación histopatológica fue observar, en algunos casos, migración de linfocitos, plasmocitos y polimorfonucleares hacia la región sub-epitelial, que en ocasiones alcanzaban los espacios

intersticiales de las células epiteliales, un hallazgo que definimos como presencia de células inflamatorias intra-epiteliales.

Histológicamente se ha demostrado en estudios del tracto genital murino que la intensidad de la llegada de neutrófilos hacia el oviducto (piosálpinx) correlaciona directamente con un eventual desarrollo de hidrosálpinx. La infiltración prolongada de neutrófilos hacia el oviducto correlaciona con un incremento en la incidencia de hidrosálpinx severo (Ramsey KH *et al*, 2005; Shah AA *et al*, 2005).

El análisis histológico del tejido procedente de mujeres infectadas por *Chlamydia trachomatis* y con EPI ha revelado la presencia de infiltrado inflamatorio, caracterizado por la presencia de neutrófilos en el epitelio de la superficie endometrial y en las luces glandulares; también es habitual observar un denso infiltrado linfocitario en el estroma subepitelial, presencia de células plasmáticas estromales y, en los casos más graves, centros germinales con linfocitos transformados (Darville T y Hiltke TJ, 2010). Otro factor potencialmente importante del daño molecular asociado a la infección por *Chlamydia trachomatis* son las metaloproteinasas de la matriz (MMPs), que son expresadas por neutrófilos y monocitos, y se encuentran relacionadas con los mecanismos de proteólisis y resíntesis de la matriz extracelular. Estas aseveraciones se correlacionan con los hallazgos inflamatorios observados en los especímenes tisulares de nuestro grupo de pacientes investigadas.

Ramsey *et al.*, en un estudio realizado en 2005, llegaron a la conclusión de que existe relación entre la producción de MMP-9 por neutrófilos, el desarrollo de cicatrización y la fibrosis en el oviducto de ratones, posterior a la infección por *Chlamydia trachomatis* (Ramsey KH *et al.*, 2005). Por otra parte, Ault *et al.* demostraron en células humanas el papel de los neutrófilos y las MMPs en la inducción del daño tisular, estableciendo que células de las trompas de Falopio infectadas *in vitro* con *Chlamydia trachomatis* producen MMP-2 y que las células estromales del oviducto producen MMP-9 (Ault KS *et al.*, 2002).

Las infecciones causadas por *Chlamydia trachomatis* provocan daño severo que en algunos casos es irreversible. Posterior a la infección de las células epiteliales se induce la producción de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO). Estas moléculas dañinas para la célula huésped son aprovechadas por la bacteria induciendo la activación de la Caspasa-1, que contribuye al crecimiento de la bacteria. Dada la importancia de las ERO como

inductoras de la activación de la Caspasa-1 durante el crecimiento del cuerpo de inclusión clamidial, se ha puesto atención en este factor. En un estudio realizado recientemente por Abdul-Sater *et al.*, se describe que la producción de ERO durante la infección por *Chlamydia trachomatis* es inducida por la NADPH oxidasa y potenciada por un mecanismo dependiente de LRX1, llegando a la conclusión de que se requiere la presencia de NLRX1 para el crecimiento óptimo de *Chlamydia trachomatis* (Abdul-Sater AA *et al.*, 2010).

Los patógenos bacterianos han sido implicados en la modulación de la apoptosis en la célula huésped, frecuentemente han sido asociados a la inducción de mecanismos pro-apoptóticos del huésped. La inducción de la apoptosis ha sido relacionada con la producción de toxinas bacterianas que van dirigidas en contra de la membrana de la célula huésped, también se relacionan con la inhibición de la síntesis proteica de la célula huésped, o con la secreción de proteínas efectoras directamente en el citoplasma de la célula huésped, vía un sistema de secreción tipo III (Nougayrède JP *et al.*, 2005).

Como es sabido, *Chlamydia trachomatis* es un patógeno procariótico intracelular obligado, pero los efectos de esta bacteria en las rutas de señalización apoptótica son variables, lo que determina que este microorganismo sea único y más complejo que otras bacterias que alteran estas rutas. Bajo circunstancias similares este microorganismo induce apoptosis y/o necrosis, pero bajo algunas otras circunstancias tiene la capacidad de inhibir los mecanismos pro-apoptóticos.

Existen pocos estudios que describan el daño histológico ocasionado por la infección por *Ureaplasma urealyticum*, sin embargo estudios experimentales realizados hace algunos años han demostrado que esta bacteria, por sus características biológicas, causa alteraciones en el tejido infectado mediante la inducción de la respuesta inmunológica del huésped o por los mecanismos patogénicos propios del microorganismo.

Un mecanismo que emplea *Ureaplasma urealyticum* para inducir daño tisular del huésped es la formación de adherencias celulares; en publicaciones previas se ha comprobado que esta bacteria se une fuertemente a las superficies celulares, por ejemplo eritrocitos, espermatozoides y células del epitelio uretral (Díaz-García FJ *et al.*, 2006). Por estos antecedentes Torres-Morquecho *et al.*, en 2010, realizaron un estudio experimental para investigar si esta bacteria también genera adherencias sobre las células epiteliales

pulmonares, demostrando que sí es un mecanismo patogénico que emplea esta bacteria para generar daño pulmonar, sin embargo es rápidamente contrarrestado con el empleo de la terapéutica adecuada (Torres-Morquecho A *et al*, 2010). Como ha sido descrito previamente, dentro de los hallazgos clínicos indicativos de daño en el tracto genital de las pacientes estudiadas, la presencia de adherencias uterinas fue una de datos clínicos constantemente observados, lo que indica la correlación entre lo encontrado en el grupo de pacientes estudiadas y los hallazgos descritos por Torres-Morquecho.

Un parámetro histológico distintivo de un proceso inflamatorio endometrial es la pérdida del equilibrio tisular estromal, caracterizada por un desfase en el estadio celular de los componentes del estroma del endometrio y su concordancia con la fase de desarrollo glandular. Una de las características de esta alteración es la presencia de atrofia glandular, así como de hiper celularidad estromal. Tres de los casos estudiados presentaron desfase aparente del estadio de los componentes endometriales (desfase hormonal), en 2 de los casos el desfase fue moderado y, en uno, fue escaso.

Está establecido que en los estadios crónicos de un proceso inflamatorio del endometrio, es posible observar alteraciones tisulares profundas, como la presencia de centros germinales, tejido de granulación o úlceras necróticas, sin embargo, en nuestro grupo de pacientes estudiadas no logramos observar estas alteraciones tisulares.

Bayer-Garner IB y Korourian S (2001) y, años después, Smith M *et al*. (2009) refirieron como parámetro histológico importante, que ayuda a establecer el diagnóstico de esta entidad clínica, la falta de sincronización en el proceso de maduración entre las glándulas endometriales y el estroma circundante. Diversos grupos de investigadores sugieren que la presencia de células plasmáticas en el estroma endometrial es el parámetro distintivo de la endometritis crónica. Datos que sin duda concuerdan con lo observado en el grupo de pacientes evaluadas de la presente Tesis Doctoral.

De otra parte, observamos concordancia con los resultados publicados en un estudio realizado en 1981 por Greenwood S y Moran JJ, en el cual investigaron clínica e histológicamente a un grupo de 99 mujeres con endometritis crónica. Encontraron como hallazgos morfológicos principales con valor diagnóstico, el edema del estroma de tejido conectivo, incremento en la densidad estromal e infiltrado inflamatorio pleomórfico;

clínicamente el principal síntoma encontrado fue la presencia de sangrado vaginal en el 94% de las pacientes (Greenwood SM y Moran JJ, 1981).

En un estudio más reciente, realizado en 2010 por Beruchashvili *et al.*, se llegó a la conclusión de que el principal fenómeno morfológico observable en la endometritis crónica es la presencia de una distrofia severa, caracterizada por alteraciones atróficas del epitelio de revestimiento y glandular; también es común la presencia de infiltrado celular polimórfico y transformación estromal de diferente intensidad (Beruchashvili M *et al.*, 2010). Por otra parte, Kovalenko *et al.* ya habían descrito previamente estas observaciones histopatológicas aunadas a la presencia de cambios fibróticos vasculares y del estroma, así como la presencia de alteraciones en la densidad del endotelio de revestimiento endometrial, disminución del volumen glandular y un incremento relativo del tejido conectivo (Kovalenko VL *et al.*, 2008).

La importancia de *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma spp.* como gérmenes asociados a infección genital interna se ha sugerido desde hace ya varias décadas, pero las dificultades diagnósticas y la falta de síntomas asociados reconocibles con facilidad limita el entendimiento de estas infecciones que generalmente son ignoradas ó tratadas de manera insuficiente

Aunque la *Chlamydia trachomatis* es natural de zonas tropicales y subtropicales la clamidiosis se considera prácticamente endémica en muchos países. A nivel mundial se refieren 89 millones de casos nuevos. En los Estados Unidos se observan 5 millones de casos nuevos de infección genital por esta bacteria cada año, y se estima que el costo de las secuelas de estas infecciones no tratadas oportunamente asciende a 2.3 billones millones de dólares al año. En el caso por ejemplo de la EPI crónica, se calcula que su atención genera un costo de 2 millones de dólares por año, por cada 500 casos, en los EU. Lamentablemente en nuestro país no existen cifras fiables al respecto y aun más, un clima de escepticismo existe en torno a considerar importante éste diagnóstico como causa de infertilidad y de fracaso en reproducción asistida.

Es común que éstos gérmenes sean considerados exclusivamente como de transmisión sexual, pero su vía natural de entrada son las mucosas húmedas en general; la infección “primaria” puede localizarse con frecuencia fuera del área genital y afectan no sólo a la población con vida sexual activa sino a niños y adolescentes, y prácticamente no

respetan ninguna edad. Actividades de contacto con mucha gente, como lo son las del área médica hospitalaria y no hospitalaria, maestros de escuela, trabajadores sociales y comerciantes, son de riesgo para éstas infecciones.

Las conjuntivitis, otitis, faringoamigdalitis, sinusitis y bronquitis leves pero crónicas, se encuentran como antecedente en muchos de los pacientes. El grado de afectación llega a ser grave en condiciones de pobreza extrema, como lo demuestra la elevada incidencia de ceguera por Trachoma en poblaciones indígenas del estado de Chiapas. Pero en otros casos, no conocemos la existencia de éstas infecciones hasta que los pacientes acuden con secuelas que afectan la capacidad reproductiva. La ubicación anatómica de los procesos infecciosos difícilmente se limita a un solo órgano y podemos encontrar desde uretritis prostatovesiculitis, hasta deferentitis y epidídimo orquitis en el hombre, y bartholinitis, endocervicitis, endometritis crónica, atrofia endometrial, salpingitis, obstrucción ó sub obstrcción tubaria y sus complicaciones: infertilidad, aborto recurrente y embarazo ectópico, en la mujer. Sin duda la cronicidad y la severidad de los procesos determinarán su reversibilidad y curación bajo tratamiento específico y suficiente, ó su persistencia.

Al margen de investigaciones tendentes a definir los mecanismos de patogenicidad de *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma spp.* con relación a la fertilidad y a la capacidad fecundante del gameto masculino, en nuestro país hacen falta estudios poblacionales que nos permitan dimensionar mejor la presencia de éstas infecciones por su posible importancia en la génesis de enfermedades de elevada morbi-mortalidad materno-infantil. Entidades como la muerte fetal in útero, las infecciones respiratorias del recién nacido, las encefalitis y meningitis asépticas y resistentes a tratamiento, el embarazo anembrionico, el fallo de implantación embrionaria, el fracaso inesperado en reproducción asistida y la infertilidad conyugal de causa no conocida son sin duda retos médicos en los que investigar la presencia de éstos gérmenes, y puede permitirnos fundamentar un diagnóstico preciso y un tratamiento específico con mayores posibilidades de éxito.

Hasta lo que hemos investigado en la bibliografía, éste es el primer estudio histopatológico de biopsias de mujeres con infertilidad o abortos tempranos, en los que se describe la presencia de *C. trachomatis* y bacterias con pleomorfismo y dimensiones características del *Ureaplasma urealyticum*, en presencia de alteraciones características de endometritis. La sintomatología observada en esas pacientes corresponde a las descritas clásicamente para la infección genital interna, pero además se caracteriza por la presencia

de secreción café perimenstrual, como uno de los cambios constantemente asociados a la infección endometrial por los gérmenes citados.

Es posible que en la endometritis, la presencia de células de inflamación y los cambios moleculares asociados, las alteraciones del estroma y glándulas endometriales, así como la presencia de bacterias causantes del proceso y presentes en el propio tejido, sean la condición desfavorable para la implantación embrionaria. A través de la producción de secreciones alteradas que contienen a las bacterias causantes del proceso infeccioso, específicamente cuando se trate de *C. trachomatis* y *U. urealyticum*, en la endometritis se integran un conjunto de condiciones adversas no solo para la implantación y sobrevivencia embrionaria sino también los que interfieren con los fenómenos implícitos en la fecundación y transporte del óvulo a la cavidad uterina, con la ulterior implantación y el desarrollo embrionario normal.

De acuerdo a lo descrito en éste trabajo, y siendo la endometritis un evento comúnmente presente en las infecciones genitales internas que padecen un alto porcentaje de mujeres con infertilidad, se sugiere, por una parte, su diagnóstico y tratamiento oportuno, previniendo las complicaciones o secuelas cicatriciales del proceso inflamatorio. Por otra parte, debiera considerarse incluir el estudio histopatológico de la biopsia endometrial en la evaluación sistemática de las mujeres con fallo reproductivo, mayormente ante la presencia de signos y síntomas de infección genital interna.

El diagnóstico temprano de infección genital y la realización de pruebas de laboratorio en búsqueda de *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* y el tratamiento correspondiente, pudiera evitar el fallo reproductivo y las lesiones cicatriciales, y mejorar los resultados de los tratamientos de reproducción asistida.

6. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- PRIMERA.** Las pacientes incluidas en este estudio con infertilidad e infección por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* presentaron sangrado menstrual atípico, molestias vaginales, leucorrea, dolor pélvico y sangrado intermenstrual, como signos y síntomas de mayor frecuencia.
- SEGUNDA.** En todos los casos estudiados, se corroboraron, en el tejido endometrial, los cambios característicamente descritos para la endometritis crónica en presencia de partículas bacterianas identificadas, de acuerdo a su morfología, como *Chlamydia* o *Ureaplasma*.
- TERCERA.** Este es el primer trabajo en el que se describen los hallazgos clínicos y del estudio histopatológico de la biopsia endometrial de pacientes con fallo reproductivo por infección genital interna, y diagnóstico de co-infección por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*.
- CUARTA.** El estudio histopatológico de la biopsia endometrial debiera ser considerado como parte de la evaluación sistemática de las mujeres con fallo reproductivo, mayormente ante la presencia de signos y síntomas de infección genital interna.

7. RESUMEN

Realizamos un estudio clínico e histopatológico en 29 mujeres seleccionadas de un grupo que acude por infertilidad conyugal. Las pacientes seleccionadas tenían una infección genital interna por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*, comprobada por prueba de IFD en exfoliado endocervical y cultivo en medios selectivos para Mycoplasmas genitales y *Ureaplasma urealyticum*, practicado en exudado cérvico vaginal.

Aunque se sabe que en muchos casos la endometritis forma parte de la infección genital interna que padecen un alto porcentaje de las parejas que sufren de incapacidad para procrear, el estudio de la biopsia endometrial, no forma parte de los protocolos convencionales de evaluación diagnóstica del factor femenino de la infertilidad.

Por este motivo el estudio histopatológico se centró en el análisis de las biopsias de endometrio practicadas en la evaluación de factores etiológicos que pudieran estar asociadas al origen de la infertilidad y la pérdida gestacional temprana que algunas pacientes refirieron como antecedente. Otras complicaciones gineco-obstétricas referidas por el grupo de mujeres que se incluyeron en éste proyecto fueron el embarazo ectópico, el aborto recurrente, la falta de eficacia de los tratamientos de reproducción que se les habían realizado previamente, obstrucción tubaria y adherencias pélvicas e inflamación pélvica crónica. El cuadro clínico presente en la mayoría pacientes (93%), al momento de éste estudio, incluyó el sangrado menstrual atípico. Otros signos clínicos frecuentes fueron: la presencia de molestias vaginales (93%), leucorrea de diferentes características (90%), dolor pélvico (83%), sangrado intermenstrual (41%).

El análisis microscópico realizado en cortes del tejido incluido en parafina teñidos con HE, permitió en observaciones realizadas a 1000X, reconocer en todos los casos estudiados, la presencia de las partículas bacterianas identificadas de acuerdo a su morfología, como *Chlamydia* o *Ureaplasma* que habían sido previamente diagnosticadas en las secreciones genitales.

Los hallazgos histopatológicos del tejido endometrial, de mayor frecuencia incluyeron: edema intersticial (93%), el infiltrado inflamatorio subepitelial de linfocitos y de polimorfonucleares (72%), y de plasmocitos en el 48%. La denudación del epitelio de revestimiento epitelial se observó en el 69% de las biopsias y en el 62% de los casos se encontró vacuolación intracitoplásmica de las células epiteliales conocida como

espongiosis. En un porcentaje menor se encontraron en el tejido endometrial, células inflamatorias intraepiteliales (linfocitos y polimorfonucleares), tanto del epitelio superficial como glandular y centros germinales de células inflamatorias en el estroma conectivo. Aunque solo en algunos casos, se apreció pérdida del equilibrio del desarrollo estromal con respecto al glandular, que para la fase secretoria del ciclo menstrual en la que se realizaron las biopsias, corresponde a una atrofia glandular combinada con hiper celularidad estromal.

Este es, hasta lo que hemos revisado en la literatura mundial, el primer trabajo en el que se reportan los hallazgos clínicos y del estudio histopatológico de la biopsia endometrial, de pacientes con falla reproductiva por infección genital interna, y diagnóstico de co-infección por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*.

Clínicamente destacó la presencia de sangrado menstrual anormal, que se ha referido en una serie de patologías uterinas como la miomatosis, los pólipos, la adenomiosis y la endometriosis, estuvo presente en casi la totalidad de las pacientes incluidas. Habría que considerar en la interpretación del sangrado menstrual anormal o atípico, que por una parte, nuestras pacientes no presentaban otras patologías uterinas, fuera de la infección y que los reportes de otras patologías uterinas, no incluyeron la investigación de infección genital interna ni la presencia de *C. trachomatis* y *U. urealyticum*. Podríamos considerar si la infección genital interna coincidiera con la miomatosis, los pólipos, la adenomiosis y la endometriosis etc. el sangrado menstrual atípico sería característico del proceso infeccioso.

Las alteraciones histológicas que describimos en éste trabajo corresponden en general a los que se han considerado característicos de la endometritis crónica, sin embargo en ninguno de los reportes previos se han descrito ante la presencia *in situ* de *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*.

En vista de los cambios estromales, la reacción inflamatoria y la presencia de bacterias en el tejido conectivo y en el epitelio glandular y de revestimiento superficial, la endometritis por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*, debería ser considerada como una condición adversa a la fertilidad, así como a la implantación y desarrollo normal del embrión.

Sería recomendable que se considere al estudio histopatológico de la biopsia de endometrio en la evaluación de la pareja infértil, sobre todo en presencia de signos y síntomas de infección genital o procesos inflamatorios crónicos. El diagnóstico temprano

de la infección genital y la aplicación de pruebas para *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* y el tratamiento correspondiente, pueden prevenir la falla reproductiva y las lesiones cicatriciales y repercutir en mejores resultados de los tratamientos de reproducción.

8. SUMMARY

We performed a clinical and histopathologic study of 29 selected women, from an infertile couples group. The selected patients had internal genital infection by *Chlamydia trachomatis* and *Ureaplasma urealyticum*, proved out on endocervical swab by DIF test and selective growth culture media of vaginal secretion, respectively.

Although endometritis is included into the internal genital infection, present in a high percentage of infertile couples, the study of endometrial biopsy is out of the diagnostic routine evaluation of infertility female factor.

Therefore, this study was focused on the analysis of endometrial biopsies, during the evaluation of gynecologic factor, because they would be associated with the etiology of infertility and early pregnancy loss, of some patients included in this work. Other gynecological obstetric previous complications, reported by this group of infertile women were: ectopic pregnancy, recurrent abortion, failure of previous reproduction treatments, tubal blockage, pelvic adherent scars and chronic pelvic inflammatory disease. At the time of this evaluation, the most frequent clinical sign present in the infertile *Chlamydia trachomatis* and *Ureaplasma urealyticum*, infected women, was atypical menstrual bleeding (93%). Other common clinical signs were the presence of vaginal discomfort (93%), leucorrhea (90%), pelvic pain (83%) and intermenstrual bleeding (41%).

Microscopic analysis was performed on paraffin embedded and H&E stained tissue sections, observed at 1000X. In all the cases it was possible to recognize, the presence of bacterial particles, identified according to their morphology, such as *Chlamydia* or *Ureaplasma*, which were previously diagnosed in genital secretions.

The most frequent histopathologic finding at the endometrial tissue, were: interstitial edema (93%), lymphocytic and polymorphonuclear subepithelial infiltrate (72%) and in 48%, plasmocytic subepithelial infiltrate. The cell denudation of the lining epithelia was observed in 69% of biopsies and in 62% of them, intracytoplasmic vacuolation of epithelial cells, known as spongiosis, was observed. In a low percentage of cases, intraepithelial inflammatory cells (lymphocytes and polymorphonuclears), were found at the endometrium, both lining and glandular epithelia. Germinal center of inflammatory cells in the connective stroma also were observed.

Although, only in a few biopies, we observed imbalance of stromal development stage, regarding to glandular development stage, that is considered characteristic of chronic

endometritis. These changes corresponded to a glandular atrophy combined with stromal hypercellularity that were abnormal at secretory phase of the menstrual cycle, when were performed the endometrial biopsies.

To our knowledge, this is the first work that describe the clinical and histopathologic findings of endometrial biopsy, in patients with reproductive failure by internal genital infections, and co-infected by *Chlamydia trachomatis* and *Ureaplasma urealyticum*.

In our study, the clinical highlights were the presence of abnormal menstrual bleeding, in almost all patients. This kind of menstrual bleeding has been reported as well, in a variety of pathologies such as uterine fibroids, endometrial polyps, adenomyosis and endometriosis. To the interpretation of abnormal menstrual bleeding, we propose that it should be considered due to the endometrial infection, because our patients had not other uterine pathologies, and the other reports of uterine pathologies, did not include the diagnosis of *C. trachomatis* and *U. urealyticum* internal genital infections. Therefore the abnormal menstrual bleeding would be representing an endometrial infection underlying to uterine fibroids, endometrial polyps, adenomyosis and endometriosis.

Histological changes that we are reporting in this work, correspond to classically considered characteristics of chronic endometritis, however, none of the previous reports have been described this characteristics at the *in situ* presence of *Chlamydia trachomatis* and *Ureaplasma urealyticum*.

In view of glandular and stromal changes, inflammatory reaction and presence of bacteria into the stromal tissue and glandular and lining epithelia, endometritis due to *Chlamydia trachomatis* and *Ureaplasma urealyticum*, should be considered like an adverse condition to the female fertility as well implantation and normal embryo development. The clinician must be to consider the study of endometrial biopsy in all patients that need evaluation for infertility, even more if signs and symptoms of internal genital infection or chronic inflammatory process are present. Early diagnosis of genital infection and laboratory test performance looking for *Chlamydia trachomatis* and *Ureaplasma urealyticum* and its corresponding treatment, could be prevent reproductive failure and scarring injuries, and may be can improve the results of reproduction treatments.

9. REFERENCIAS

- Abdul-Sater AA, Saïd-Sadier N, Lam VM, Singh B, Pettengill MA, Soares F, Tattoli I, Lipinski S, Girardin SE, Rosenstiel P, Ojcius DM.** Enhancement of reactive oxygen species production and chlamydial infection by the mitochondrial Nod-like family member NLRX1. *J Biol Chem.* 2010; 285(53):41637-45.
- Agbakaba NR., Adetosoye AI., Alaka OO., Adewole IF.** Colonization of mouse reproductive organs following vaginal inoculation with human *Ureaplasma*: Effect on fertility. *World Journal of Medicine Sciences.* 2006;1(2):1430-143.
- Agrawal T, Vats V, Salhan S, Mittal A.** The mucosal immune response to *Chlamydia trachomatis* infection of the reproductive tract in women. *J Reprod Immunol.* 2009;83(1-2):173-8.
- Alvarez-Cuevas S.** Implementación de un modelo murino para la caracterización histopatológica de la infección endometrial por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*. Tesis Doctoral, UANL, 2012
- Anttila T, Tenkanen L, Lumme S, Leinonen M, Gislefoss RE, Hallmans G, Thoresen S, Hakulinen T, Luostarinen T, Stattin P, Saikku P, Dillner J, Lehtinen M, Hakama M.** Chlamydial Antibodies and Risk of Prostate Cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention.* 2005;14:385-389.
- Anttila T; Saikku P; Koskela P; Bloigu A; Dillner J; Ikaheimo I; Jellum E; Lehtinen M; Lenner P; Hakulinen T; Narvanen A; Pukkala E; Thoresen S; Youngman L; Pavvonen J.** Serotypes of *Chlamydia trachomatis* and Risk for Development of Cervical Squamous Cell Carcinoma. *JAMA.* 2001;285:47-51.
- Ault KA, Kelly KA, Ruther PE, Izzo AA, Izzo LS, Sigar IM, Ramsey KH.** *Chlamydia trachomatis* enhances the expression of matrix metalloproteinases in an in vitro model of the human fallopian tube infection. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187(5):1377-83.
- Ault KA, Tawfik OW, Smith-King MM, Gunter J, Terranova PF.** Tumor necrosis factor-alpha response to infection with *Chlamydia trachomatis* in human fallopian tube organ culture. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;175(5):1242-5.
- Bachhmainer K, Neu K, de la Maza LM, PAL S, Hessel A, Penninger JM.** Chlamydia infections and heart disease linked through antigenic mimicry. *Science.* 1999; 283:1335-1338.
- Bas S, Vischer TL.** *Chlamydia trachomatis* antibody detection and diagnosis of reactive arthritis. *Br J Rheumatol.* 1998;37:1054-1059
- Bayer-Garner IB; Korourian S.** Plasma Cells in Chronic Endometritis are Easily Identified When Stained with Syndecan-1. Original Article *Mod Pathol.* 2001;14 (9):877-879.
- Bèbèar C, De Barbeyrac B.** Genital *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Infect.* 2009;1:4-10.
- Bergan T.** Biology of Chlamydia. *Scand J Infect Dis Suppl.* 1982; 32:11-5.
- Beruchashvili M; Gogiashvili L; Datunashvili E; Topuria Z; Tsagareli Z.** Morphological peculiarities of endometrium in chronic endometritis associated with bacterial vaginosis. *Georgian Med News.* 2010;(181):59-63.
- Biggs WS, Williams RM.** Common gynecologic infections. *Prim Care.* 2009; 36:33-51.
- Black CM.** Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10 (1):160-84.
- Bobo L, Novak N, Muñoz B, Hsieh Y-H, Quinn T, West S.** Severe Disease in children with trachoma is associated with persistent *Chlamydia trachomatis* infection. *J Infects Dis.* 1997;176:1524-1530.

Boncompain G, Schneider B, Delevoye C, Kellermann O, Dautry-Varsat A, Subtil A. Production of reactive oxygen species is turned on and rapidly shut down in epithelial cells infected with *Chlamydia trachomatis*. *Infect Immun*. 2010;78(1):80-87.

Burstein GR, Gaydos CA, Diener-West M, Howell MR, Zenilman JM, Quinn TC. Incident *Chlamydia trachomatis* infections among inner-city adolescent females. *JAMA*. 1998;280(6):521-6.

Caro Vergara MR; Buendía M; Del Río A; Cuello Gijón F; Ortega Hernández N; Gallego Ruiz; Salinas L. *Chlamydia trachomatis* genital infection: Immunity and prospects for vaccine development. *Inmunología Vol. 24 Num 3*. 2005;298-312.

Carvalho JP and Carvalho FM. Is Chlamydia-infected tubal fimbria the origin of ovarian cancer? *Med Hypotheses*. 2008;71(5):690-693.

Cassell GH, Mekalanos J. Development of antimicrobial agents in the era of new and reemerging infectious diseases and increasing antibiotic resistance. *JAMA*. 2001;285(5):601-5.

Cassell GH, Waites KB, Watson HL, Crouse DT, Harasawa R. *Ureaplasma urealyticum* intrauterine infection: role in prematurity and disease in newborns. *Clin Microbiol Rev*. 1993;6(1):69-87

Cates W, Wasserheit JN. Genital Chlamydia infections: Epidemiology and reproductive sequelae. *Am J Obstet Gynecol*. 1991;146:1771-1781.

Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010. <http://www.cdc.gov/std/treatment/2010/pid.htm>

Centers for Disease Control and Prevention. Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks United States. Surveillance Summaries 1993-1997.

MMWR. 2000/49(SS01);1-51.

Centers for Disease Control and Prevention: National Center for HIV/AIDS, Viral Hepatitis, STD, and TB Prevention Center Name Goes Here Division, Program, or Office Name Goes Here. 2007; 2012. <http://www.cdc.gov/std/pid/stdfact-pid.htm>

Centers for Disease Control and Prevention, Health Services Research Division. Sexually Transmitted Disease Surveillance. 2007; 2008; 2010; 2012. <http://www.cdc.gov/std/stats07/corrections.html>

Cerezo S, Guerra-Infante FM. *Mycoplasma hominis* attaches to and locates intracellularly in human spermatozoa. *Hum. Reprod*. 2006; 21: 1591-1598.

Chernesky MA, Mohony JB, Castriciano S, Mores M, Stewart IO, Landis SJ, Seidelman W, Sargeant EJ, Leman C. Detection of *Chlamydia trachomatis* antigens by enzyme immunoassay and immuno fluorescence in genital specimens from symptomatic and asymptomatic men and women. *J Infect Dis*. 1986;154:141-148.

Clifton DR, Goss RA, Sahni SK, van Antwerp D, Baggs RB, Marder VJ, Silverman DJ, Sporn LA. NF-kappa B-dependent inhibition of apoptosis is essential for host cell survival during *Rickettsia rickettsii* infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(8):4646-51.

Cohen CR; Manhart LE; Bukusi EA; Astete S; Brunham RC; Holmes KK; Sinei SK; Bwayo JJ; Tottem PA. Association between *Mycoplasma genitalium* and acute endometritis. *Lancet*. 2002;359(9308):765-766.

Cunningham KA, Beagley KW. Male genital tract chlamydia infection: Implications for pathology and infertility. *Biol Reprod*. 2008;79:180-189

Damario MA, Rock JA. Pain recurrence:

a quality of life issue in endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet.* 1995;50(1):27-42.

Darville T, Hiltke TJ. Pathogenesis of genital tract disease due to *Chlamydia trachomatis*. *J Infect Dis.* 2010;201 Suppl 2:S114-25

Dawson C, Schachter. Can blinding Trachoma be eliminated worldwide? *Arch Ophthalmol* 1999;117(7):974

De Lucena Oliveira M, de Amorim MM, de Souza AS, de Albuquerque LC, Da Costa AA. Chlamydia infection in patients with and without cervical intraepithelial lesions. *Rev Assoc Med Bras.* 2008;54: 506-512.

Deluca G, Marin M, Schelover E, Chamorro E, Vicente L, Albhom M, et al. Infección por *Chlamydia trachomatis* y Papilomavirus en mujeres con alteraciones citohistológicas de cuello uterino. *Medicina.* 2006; 66(4):303-306.

Díaz-García FJ, Herrera-Mendoza AP, Giono-Cerezo S, Guerra-Infante FM. Mycoplasma hominis attaches to and locates intracellularly in human spermatozoa. *Hum Reprod.* 2006;21(6): 1591-8.

Drugosz A, Törnblom H, Mohammadian G, Morgan G, Veress B, Edvinsson B, Sandström G, Lindberg G. *Chlamydia trachomatis* antigens in enteroendocrine cells and macrophages of the small bowel in patients with severe irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol.* 2010; 10:19.

Doraiswami S, Johnson T, Rao S, Rajkumar A, Vijayaraghavan J, Panicker VK. Study of endometrial pathology abnormal uterine bleeding. *J Obstet Gynaecol India,* 2011;61(4):426-30.

Eckert LO, Lentz GM. Infections of the lower genital tract: Vulva, vagina, cervix, toxic shock syndrome, HIV infections. In: Katz VL, Lentz GM, Lobo RA, Gershenson DM, eds. *Comprehensive Gynecology.* 5th ed. Philadelphia, Pa:

Mosby Elsevier. 2007; chap 22.

Eckert LO, Sugar N, Fine D. Characteristics of sexual assault in women with a major psychiatric diagnosis. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;186(6):1284-8.

Emerson PM, Lindsay SW, Walraven GE, Faal H, Bøgh C, Lowe K, Bailey RL. Effect of fly control on trachoma and diarrhoea. *Lancet.* 1999;353:1401-3.

Equils O, Lu D, Gatter M, Witkin S, Bertolotto C, Arditi M, McGregor J, Simmons C, Hobel C. Chlamydia Heat Shock Protein 60 Induces Trophoblast Apoptosis through TLR4. *The Journal of Immunology.* 2006;177(2):1257-1263

European Centre for Disease Prevention and Control. Review of Chlamydia control activities in EU countries. Technical Report. 2008. <http://www.ecdc.europa.eu>.

Evans J, Baraitser P, Cross J, Bacon L, Piper J. Managing genital infection in community family planning clinics: an alternative approach to holistic sexual health service provision. *Sex Transm Infect.* 2004;80(2):142-4.

Fahmy NW, Honoré LH, Cumming DC. Subacute focal endometritis. Association with cervical colonization with *Ureaplasma urealyticum*, pelvic pathology and endometrial maturation. *J Reprod Med.* 1987;32(9):685-7.

Faro S, Martens M, Maccato M, Hammill H, Pearlman M. Vaginal flora and pelvic inflammatory disease. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;169:470-4.

Faro S. *Chlamydia trachomatis*: female pelvic infection. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;164(2):1767-70.

Felming DT, Wasserheit JN. From epidemiological synergy to public health policy and practice: The contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection. *Sex Transm Infect.* 1999; 75:3-17.

- Fenton KA, LaMontagne DS, Randall S.** National screening programme for chlamydia exists in England. *BMJ*. 2004; 329(7458):172.
- Filipp E, Niemec K, Kowalska B, Pawloska A, Kwiatkowska M.** *Chlamydia trachomatis* infection in sexually active teenagers. *Ginek Pol*. 2008; 79:264-270.
- Fischer SF, Harlander, T., Vier, J. & Hacker, G.** Protection against CD95-induced apoptosis by chlamydial infection at a mitochondrial step. *Infect. Immun*. 2004; 72:1107-1115.
- Foxman B.** Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med*. 2002; 113(Suppl 1A): 5S-13S.
- Furr PM, Taylor-Robinson D.** The establishment and persistence of *Ureaplasma urealyticum* in oestradiol-treated female mice. *Journal of Medical Microbiology*. 1989;29:111-114.
- Gallegos Ávila MG.** Estudio citológico del semen de hombres subfértiles con infección genital por *Chlamydia* y *Mycoplasma*. Observaciones en cortes semifinos y ultrafinos. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Madrid. 2005.
- Gallegos G, Ramos B, Santiso R, Goyanes V, Gosálvez J, Fernández JL.** Sperm DNA fragmentation in infertile men with genitourinary infection by *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma*. *Fertil Steril*. 2008;90(2):328-334.
- Gallegos-Avila G, Alvarez-Cuevas S, Niderhauser-García A, Ancer-Rodríguez J, Jaramillo-Rangel G, Ortega-Martínez M.** Phagocytosis of spermatozoa and leucocytes by epithelial cells of the genital tract in infertile men infected with *Chlamydia trachomatis* and mycoplasmas. *Histopathology*. 2009;55 (2):232-4.
- Garlanda SM, Chuileannáinb FN, Satzkec C, Robins-Brownec R.** Mechanisms, organisms and markers of infection in pregnancy *J Reprod Immunol*. 2002;57(1-2):169-183.
- Gaudoin M, Rekha P, Morris A, Lynch J, Acharya U.** Bacterial vaginosis and past chlamydial infection are strongly and independently associated with tubal infertility but do not affect in vitro fertilization success rates. *Fertil Steril*. 1999;72(4):730-2.
- Gayados CA, Ferrero DV, Papp J.** Laboratory aspects of screening men for *Chlamydia trachomatis* in the new millennium. *Sex Transm Dis*. 2008; 35(Suppl):45-50.
- Gazvani R, Coyn L, Anttila T, Saikku P, Pavonnen J, Templeton A.** Antibodies to *Chlamydia trachomatis* serum and peritoneal fluid of women with endometriosis. *Hum Fertil*. 2011;14(1):64-7.
- Gazvani R, Sajjad Y, Russell R, Alfirevic Z.** Duration of luteal support (DOLS) with progesterone pessaries to improve the success rates in assisted conception: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2012;13(1):118.
- Gerbase AC, Rowly JT, Heymann DH, et al.** Global prevalence and incidence estimates of select curable STDs. *Sex Trans Infect*. 1998;74(Suppl):12-16.
- Gonzales GF, Muñoz G, Sánchez R, Henkel R, Gallegos-Avila G, Díaz-Gutierrez O, Vigil P, Vásquez F, Kortebani G, Mazzolli A, Bustos-Obregón E.** Update on the impact of *Chlamydia trachomatis* infection on male fertility. *Andrologia*. 2004;36(1):1-23.
- Greene, W., Xiao, Y., Huang, Y., McClarty, G. & Zhong, G.** Chlamydia-infected cells continue to undergo mitosis and resist induction of apoptosis. *Infect. Immun*. 2004;72:451-460.
- Greenwood SM; Moran JJ.** Chronic endometritis morphologic and clinical

observations. *Obstet Gynecol.* 1981;359 (9308):176-83.

Griebing TL. Urinary Tract Infections in Women. In: Litwin MS, Saigal CS, editors. *Urologic Diseases in America.* US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, National

Haggerty CL, Gottlieb SL, Taylor BD, Low N, Xu F, Ness RB. Risk of sequelae after *Chlamydia trachomatis* genital infection in women. *J Infect Dis.* Jun 15 2010; 201 Suppl 2:S134-55.

Hjelm E, Hallen A, Forsum U, Wallin J. Anaerobic curved rods in vaginitis. *Lancet.* 1981;2:1353-4

Howell, M., Quinn, T, Brathwaite WB., Gaydos CA. Screening Women for *Chlamydia trachomatis* in Family Planning Clinics: The Cost-Effectiveness of DNA Amplification Assays. *Sex Trans Dis.* 1998; 25(2):108-117.

Hvid M, Baczynska A, Deleuran B, Fedder J, Knudsen HJ, Christiansen G, Birkelund S. Interleukin-1 is the initiator of Fallopian tube destruction during *Chlamydia trachomatis* infection. *Cell Microbiol.* 2007; 9(12):2795-803.

Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Washington (D.C.): US Government Printing Office. 2007; pp. 587-620.

Joesoef MR, Weinstock HS, Kent CK, Chow JM, Boudov MR, Parvez FM, et al. Corrections STD Prevalence Monitoring Group. Sex and age correlates of Chlamydia prevalence in adolescents and adults entering correctional facilities: Implications for screening policy. *Sex Transm Dis.* 2009; 36(2 Suppl):67-71.

Karin M, Lin A. NF- κ B at the crossroads of life and death. *Nature Immunol.* 2002; 3:221-227

Kelly KA, Natarajan S, Ruther P, Wisse A, Chang MH, Ault KA. *Chlamydia*

trachomatis infection induces mucosal addressin cell adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1, providing an immunologic link between the fallopian tube and other mucosal tissues. *J Infect Dis.* 2001;184(7):885-91.

Kelly KA, Robinson EA, Rank RG. Initial route of antigen administration alters the T-cell cytokine profile produced in response to the mouse pneumonitis biovar of *Chlamydia trachomatis* following genital infection. *Infect Immun.* 1996;64(12):4976-83.

Khare A, Bensal R, Sharma S, Elhence P, Makkar P, Tyagi Y. Morphological Spectrum of endometrium in Patients with Dysfunctional Uterine Bleeding. *People's Journal of Scientific Research.* 2012;5 (2):13-16

Kihlstrom E, Danielsson D. Advances in biology, management and prevention of infections caused by *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *Curr Opin Infect Dis.* 1998; 7:25-33.

Kilmarx PH, Mock PA, Levine W. Effect of *Chlamydia trachomatis* Coinfection on HIV Shedding in Genital Tract Secretions. *Sexually Transmitted Diseases:* June 2001; Volume 28, Issue 6, pp 347-348.

Kodaman PH, Arici A, Seli E. Evidence-based diagnosis and management of tubal factor infertility. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 2004;16:221-229.

Kong F, Ma Z, James G, Gordon S, Gilbert GL. Molecular genotyping of human *Ureaplasma* species based on multiple-banded antigen (MBA) gene sequences. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2000;50 Pt 5:1921-1929

Kovalenko VL; Voropaeva EE; Kozachkov EL; Kozachkova EA. Endometrial pathomorphology in bacterial vaginosis associated with chronic endometritis. *Arkh Patol.* 2008;70(2):6-8.

Kucinskiene V, Sutaite I, Valiukeviciene

- S, Milasauskiene Z, Domeika M.** Prevalence and risk factors of genital *Chlamydia trachomatis* infection. *Medicina Kaunas*. 2006;42:885-894
- Lambeth, JD.** NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nat. Rev. Immunol.* 2004;4:181-189.
- Lardenoije CM, Land JA.** Chlamydia antibody testing for tubal factor subfertility. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2007; 151(36):1981-5.
- Li Y, Chen HM, Brauner A, Zheng C, Jensen JS, Tullus K.** *Ureaplasma urealyticum* induce apoptosis in human lung epithelial cell and macrophages. *Biol. Neonate.* 2002;82: 166-173.
- Likis FE.** Sexually transmitted diseases. Upper Genital Tract Infections in Women. *Current Clinical Practice*. 2007, 183-203.
- Littman AJ, White E, Jackson LA, Thornquist MD, Gaydos CA, Goodman GE, Vaughan TL.** Chlamydia pneumoniae infection and risk of lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004;13(10):1624-30.
- Littman AJ; Jackson LA; Vaughan TL.** Chlamydia pneumoniae and Lung Cancer: Epidemiologic Evidence. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2005; 14:773-778
- Low N.** Current status of chlamydia screening in Europe. *Euro Surveill.* 2004;8(41):pii=2566. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=2566>
- Luostarinen T, Lehtinen M, Bjørge T, Abeler V, Hakama M, Hallmans G, Jellum E, Koskela P, Lenner P, Lie AK, Paavonen J, Pukkala E, Saikku P, Sigstad E, Thoresen S, Youngman LD, Dillner J, Hakulinen T.** Joint effects of different human papillomaviruses and *Chlamydia trachomatis* infections on risk of squamous cell carcinoma of the cervix uteri. *Eur J Cancer.* 2004;40(7):1058-65.
- Luton D, Ville Y, Luton-Sigy A, Cousin C, Narreido B, Fassasi-Jarretou A, Escarguel C.** Prevalence and influence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in 218 african pregnant women and their infants. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1994; 56:95-101.
- Machado Junior LC, Whitaker Dalmaso AS, Barbosa de Carvalho H.** Evidence for benefits from treating cervical ectopy: literature review. *Sao Paulo Med J.* 2008;126(2):132-9.
- Mårdh PA.** Influence of infection with *Chlamydia trachomatis* on pregnancy outcome, infant health and life-long sequelae in infected offspring. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2002;16 (6):847-64.
- Marrazzo J.** Syphilis and other sexually transmitted diseases in HIV infection. *Top HIV Med.* 2007;15(1):11-6.
- Mc Gregor JA, French JI.** Pathogenesis to treatment: preventing preterm birth mediated by infection. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 1997;5(2):106-14.
- Mims CA.** Virology research and virulent human pandemics. *Epidemiol Infect.* 1995; 115(3):377-86.
- Mirnejad R, Amirmozafari N, Kazemi B.** Simultaneous and rapid differential diagnosis of *Mycoplasma genitalium* and *Ureaplasma urealyticum* based on a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *Indian J Med Microbiol.* 2011; 29(1):33-6.
- Molano M, Meijer CJ, Weiderpass E, Arslan A, Posso H, Franceschi S, Ronderos M, Muñoz N, van den Brule AJ.** The natural course of *Chlamydia trachomatis* infection in asymptomatic Colombian women: a 5-year follow-up study. *J Infect Dis.* 2005;191(6):907-16.
- Moller BR.** Demonstration of Chlamydial inclusions in exfoliated cells. *Scand J Infect Dis.* 1982; 32:16-20.

- Mozzato-Chamay N, Mahdi OS, Jallow O, Mabey DC, Bailey RL, Conway DJ.** Polymorphisms in candidate genes and risk of scarring trachoma in a *Chlamydia trachomatis* endemic population. *J Infect Dis.* 2000;182(5):1545-8
- Muzaffar M, Akhtar KA, Yasmeen S, Rehman MU, Iqbal W, Khan MA:** Menstrual irregularities with excessive blood loss a clinic-pathological correlation. *The Journal of Pakistan Medical Association*, 2005;55(11):486-489.
- Mylonas I.** Female genital *Chlamydia trachomatis* infection: where are we heading? *Arch Gynecol Obstet.* 2012;285(5):1271-1285.
- Nalbanski B, Borisov I, Slavkova V, Filipov E.** The effect of chlamydial infection on tubal patency. *Akush Ginekol (Sofia)*. 1999;38(3):22-4.
- Ness RB, Goodman MT, Shen C, Brunham RC.** Serologic evidence of past infection with *Chlamydia trachomatis*, in relation to ovarian cancer. *J Infect Dis.* 2003;187(7):1147-52.
- Ness RB, Shen C, Bass D, Jackson C, Moysich K, Edwards R, Brunham RC.** *Chlamydia trachomatis* serology in women with and without ovarian cancer. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2008;2008:1-5.
- Ness RB.** Tools for innovative thinking in epidemiology. *Am J Epidemiol.* 2012;175(8):733-8.
- Newhall WJ, Johnson RE, DeLisle S, Fine D, Hadgu A, Matsuda B, Osmond D, Campbell J, Stamm WE.** Head-to-head evaluation of five chlamydia tests relative to a quality-assured culture standard. *J Clin Microbiol.* 1999;37(3):681-5.
- Niderhauser-Garcia A.** Infección seminal e intraespermática por *Chlamydia trachomatis* en hombres sub-fértiles. Comprobación por Inmunofluorescencia directa en cortes seminifinos del centrifugado seminal. *Tesis Doctoral*, UAM, 2012
- Nougayrède JP, Taieb F, De Ricke J, Oswald E.** Cyclomodulins: bacterial effectors that modulate the eukaryotic cell cycle. *Trends Microbiol.* 2005; 13(1):103-110.
- Novy MJ, Duffy L, Axthelm MK, Sadowsky DW, Witkin SS, Gravett MG, Cassell GH, Waites KB.** *Ureaplasma parvum* or *Mycoplasma hominis* as Sole Pathogens Cause Chorioamnionitis, Preterm Delivery, and Fetal Pneumonia in Rhesus Macaques *Reprod Sci.* 2009;16(1):56-70.
- Núñez-Troconis JT.** *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in different gynecologic diseases. *Invest Clin.* 1999;40(1):9-24.
- Núñez-Troconis JT.** *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in different gynecologic diseases. *Invest Clin.* 1999; 40(1):9-24.
- Oriel JD, Reeve P, Powis P, Miller A, Nicol CS.** Chlamydial infection. Isolation of Chlamydia from patients with non-specific genital infection. *Br J Vener Dis.* 1972;48(6):429-36.
- Paavoneen J, Egger-Kruse W.** *Chlamydia trachomatis*: Impact on human reproduction. *Hum Reprod.* 1999; 5:433-447.
- Paavonen J, Aine R, Teisala K, Heinonen PK, Punnonen R.** Comparison of endometrial biopsy and peritoneal fluid cytologic testing with laparoscopy in the diagnosis of acute pelvic inflammatory disease. *Am J Obstet Gynecol.* 1985;151(5):645-50.
- Paavonen J.** Pelvic inflammatory disease. *Medicine.* 2005; 33(10):43-46.
- Paba P, Bonifacio D, Di Bonito L, Ombres D, Favalli C, Syrjänen K, Ciotti M.** Co-expression of HSV2 and *Chlamydia trachomatis* in HPV-positive cervical cancer and cervical intraepithelial

neoplasia lesions is associated with aberrations in key intracellular pathways. *Intervirology*. 2008;51(4):230-4.

Patton JP, Nash DB, Abrutyn E. Urinary tract infection: economic considerations. *Med Clin North Am*. 1991; 75:495-513.

Peipert JF. Clinical practice. Genital chlamydial infections. *N Engl J Med*. 2003; 349:2424-2430

Pellati D, Mylonakis I, Bertoloni G, Fiore C, Andrisani A, Ambrosini G, Armanini D. Genital tract infections and infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2008;140(1):3-11.

Pellati D, Mylonakis I, Bertoloni G, Fiore C, Andrisani A, Ambrosini G, Armanini D. Genital tract infections and infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2008;140(1):3-11.

Pickering WJ, Birch DF, Kincaid-Smith P. Biochemical and histologic findings in experimental pyelonephritis due to *Ureaplasma urealyticum*. *Infect Immun*. 1990;58(10):3401-6.

Potasman I, Oren A, Sruog I. Isolation of *Ureaplasma urealyticum* and mycoplasma hominis from public toilet bowls. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1999;20:66-68.

Povlsen K, Bjornelius E, Lidbrink P, Lind I. Relationship of *Ureaplasma urealyticum* biovar 2 to nongonococcal urethritis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002; 21:97-101.

Pruss A y Mariotti SP. Preventing trachoma through environmental sanitation: a review of the evidence base. *Bulletin of the World Health Organization*, 2000,78(2):258-266.

Quinn PA, Shewchuk AB, Shuber J, Lie KI, Ryan E, Chipman ML, Nocilla DM. Efficacy of antibiotic therapy in preventing spontaneous pregnancy loss among couples colonized with genital mycoplasmas. *Am J Obstet Gynecol*. 1983; 145(2):239-44.

Quinn TC, Gupta PK, Burkman RT, Kappus EW, Barbacci M, Spence MR. Detection of *Chlamydia trachomatis* cervical infection: a comparison of Papanicolaou and immuno-fluorescent staining with cell culture. *Am J Obstet Gynecol*. 1987; 157:394-399.

Ramsey KH, Sigar IM, Schripsema JH, Shaba N, Cohoon KP. Expression of matrix metalloproteinases subsequent to urogenital *Chlamydia muridarum* infection of mice. *Infect Immun*. 2005;73(10):6962-6973.

Rasmussen S; Eckmann L; Quayle AJ; Shen L; Zhang YX; Anderson DJ; Fierer J; Stephens RS; Kagnoff MF. Secretion of Proinflammatory Cytokines by Epithelial Cells in Response to Chlamydia Infection Suggests a Central Role for Epithelial Cells in Chlamydial Pathogenesis. *J Clin Inv*. 1997;99(1):77-87.

Robertson JA, Chen MH. Effects of manganese on the growth and morphology of *Ureaplasma urealyticum*. *J Clin Microbiol*. 1984;19:857-864

Rodríguez-Rojas R; Ramos-González B; Arizpe-Suárez M; Gallegos-Ávila MG. Detección de *Chlamydia trachomatis* en la endometriosis de pacientes con infertilidad. Reporte de casos. Trabajo presentado en la XIX Reunión Bienal de la ALIRH, Cartagena de Indias, Colombia, 2005.

Safrin S, Schachter J, Dahrouge D, Sweet RL. Long-term sequelae of acute pelvic inflammatory disease. A retrospective cohort study. *Am J Obstet Gynecol*. 1992;166(4):1300-5.

Schachter J, Grossman M. Chlamydial infections. *Annu Rev Med*. 1981;32:45-61.

Schachter J. Immunodiagnosis of sexually transmitted diseases. *Yale J Biol Med*. 1985;58:443-452.

Schenker J, Margalioth EJ. Intrauterine adhesions: An updated appraisal. *Fertile Steril*. 1982;37(5):593-610

- Shah AA, Schripsema JH, Imtiaz MT, et al.** Histopathologic changes related to fibrotic oviduct occlusion after genital tract infection of mice with *Chlamydia muridarum*. Sex Transm Dis. 2005;32(1):49-56.
- Skjeldestad FE, Marsico MA, Sings HL, Nordbø SA, Størvold G.** Incidence and risk factors for genital *Chlamydia trachomatis* infection: a 4-year prospective cohort study. Sex Transm Dis. 2009;36(5):273-9.
- Smith DGE, Russel WC, Thirkell, D.** Adherence of *Ureaplasma urealyticum* to human epithelial cells. Microbiology. 1994; 140(Pt 10):2893-2898.
- Smith J, Muñoz N, Herrero R, et al.** Evidence for *Chlamydia trachomatis* as a human Papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. J Infect Dis. 2002; 185:324-331.
- Smith M, Hagerty KA, Skipper B, Bocklage T.** Chronic Endometritis A Combined Histopathologic and Clinical Review of Cases From 2002 to 2007. International Journal of Gynecological Pathology. 2009; 29:44-50.
- Stamm W., Norrby S.** Urinary Tract Infections: Disease Panorama and Challenges. J. Infect. Dis. 2001;183(1): S1-S4
- Stephens RS, Kalman S, Lammel C, Fan J, Marathe R, Aravind L, Mitchell W, Olinger L, Tatusov R, Zhao Q, Koonin EV, Davis RW.** Genome sequence of an obligate intracellular pathogen of humans: *Chlamydia trachomatis*. Science. 1998; 282:754-759.
- Stephens RS.** The cellular paradigm of chlamydial pathogenesis. Trends Microbiol. 2003;11(1):44-51.
- Strom BL, Collins M, West SL, Kreisberg J, Weller S.** Sexual activity, contraceptive use, and other risk factors for symptomatic and asymptomatic bacteriuria: a case-control study. Ann Intern Med. 1987;107:816-823.
- Summers PR.** Surgical aspects of peripartal infection. Clin Obstet Gynecol. 1994 Jun;37(2):324-36
- Tae-Jung Sung.** Ureaplasma infections in pre-term infants: Recent information regarding the role of Ureaplasma species as neonatal pathogens. Korean J Pediatr. 2010; 53(12):989-993.
- Taylor-Robinson D, Stacey CM, Jensen JS, Thomas BJ, Munday PE.** Further observations, mainly serological, on a cohort of women with or without pelvic inflammatory disease. Int J STD AIDS. 2009;20(10):712-8.
- Taylor-Robinson D, Thomas BJ.** The role of *Chlamydia trachomatis* genital tract and associated diseases. J Clin Pathol. 1980;33:205-233.
- Terán S, Walsh C, Irwin KL.** *Chlamydia trachomatis* infection in women: bad news, good news, and next steps in prevention. J Am Med Womens Assoc. 2001;56(3):100-4.
- Thompson C, Macdonald M, Sutherland S.** A family cluster of *Chlamydia trachomatis*. BMJ 2001;322:1473-4.
- Torres-Morquecho A; Rivera-Tapia A; González-Velázquez F; Torres J; Chávez- Munguia B; Cedillo-Ramírez L; Giono-Cerezo S.** Adherence and damage to epithelial cells of human lung by *Ureaplasma urealyticum* strains biotype 1 and 2. African Journal of Microbiology Research 2010; 4(6):480-491.
- Valle RF, Sciarra JJ.** Intrauterine adhesions: hysteroptic diagnosis, classifications, treatment, and reproductive outcome. Am J Obstet Gynecol. 1988; 158(6):1459-70
- Viniker DA.** Hypothesis on the role of sub-clinical bacteria of the endometrium (bacteria endometrialis) in gynaecological and obstetric enigmas. Hum Reprod

Update. 1999;5(4):373-85.

Viscardi RM; Kaplan J; Lovchik JC; He JR; Hester L; Rao S; Hasday JD. Characterization of a Murine Model of *Ureaplasma urealyticum* Pneumonia. Infect Immun. 2002;70(10):5721-5729.

Volgmann T, Ohlinger R, Panzig B. *Ureaplasma urealyticum*-harmless commensal or underestimated enemy of human reproduction? A review. Arch Gynecol Obstet. 2005; 273:133-139.

Wahl, C. Survival of *Chlamydia pneumoniae*-infected Mono Mac 6 cells is dependent on NF- κ B binding activity. Infect. Immun. 2001; 69:7039-7045.

Waites KB, Katz B, Schelonka RL. Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens. Clin Microbiol Rev. 2005; 18(4):757-89.

Walid MS, Heaton RL. An invisible stenotic cervix. Arch Gynecol Obstet. 2011;1:121-2.

Walid SM, Heaton RL. Laparoscopic dissection of the pararectal space. J Min Access Surg 2011;7:190-1

Wallace L, Sclar A, Hart G, Reid M, Wilson P, Goldberg DJ. What is the excess risk in women after genital Chlamydia infection? A systematic review of the evidence. Sex Transm Infect. 2008; 3:171-175.

West S. Severe Disease in children with trachoma is associated with persistent *Chlamydia trachomatis* infection. J Infects Dis. 1997;176:1524-1530

Westrom LV. Chlamydia and its effect on reproduction. J Br Fertil Soc. 1996;1:23-30.

Weström LV. *Chlamydia trachomatis* clinical significance and strategies of intervention. Semin Dermatol. 1990;9(2): 117-25.

Wiesenfeld HC, Hillier SL, Meyn LA,

Amortegui AJ, Sweet RL. Subclinical pelvic inflammatory disease and infertility. Obstet Gynecol. 2012;120(1):37-43.

Witkin SS. Immune sequelae of chronic *Chlamydia trachomatis* pelvic infection: Possible involvement of the 60kD heat shocks proteins. En: Weissernbacher R. Pelvic Inflammatory Disease (PID). "Diagnosis and Therapy". S.M.V Edicion Material Medica. Alemania. 1993.

Witkin SS. Immunological aspects of genital Chlamydia infections. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2002; 16:865-874.

Wolf H, Grunwald M, Ecke GM, Zedlick D, Bettin S, Dannenberg C, Dietrich J, Eschrich K, Arendt T, Gertz HJ. The prognosis of mild cognitive impairment in the elderly. J Neural Transm Suppl. 1998;54:31-5

Woolfitt JM, Watt L. Chlamydial infection of the urogenital tract in promiscuous and non-promiscuous women. Br J Vener Dis. 1977;53(2):93-5.

Workowski KA. Sexually transmitted infections and HIV: diagnosis and treatment. Top Antivir Med. April 2012;20(1):11-6.

World Health Organization (WHO). In: Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates. Geneva: World Health Organization, 2011:1-43

Yasser M. Abdel Rahman, Robert J. Belland. The chlamydial developmental cycle. FEMS Microbiology Reviews 29. 2005; 949-959.

Yoon BH, Chang JW, Romero R. Isolation of *Ureaplasma urealyticum* from the amniotic cavity and adverse outcome in preterm labor. Obstet Gynecol. 1998; 92:77-82.

Zdrodowska-Stefanow B, Kosowska WM, Ostaszewska-Puchalska I, Buhak-

Kozio V, Kotowicz B. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* infection in women with urogenital diseases. *Adv Med Sci.* 2006;51:250-3.

Zhang JP, Stephens RS. Mechanism of *C. trachomatis* attachment to eukaryotic host cells. *Cell.* 1992;69(5):861-9.

Zheng X, Teng LJ, Watson HL, Glass JI, Blanchard A, Cassell GH. Small

repeating units within the *Ureaplasma urealyticum* MB antigen gene encode serovar specificity and are associated with antigen size variation. *Infect. Immun.* 1995; 63: 891-98.

Zimmerman H, Potterat J, Dukes R., Muth J. Epidemiologic Differences between Chlamydia and Gonorrhea. *AJPH* 1990;80(11):1338-1342.